

Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC
Centro de Ciências Agrárias - CCA
Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais - RGV

**Desenvolvimento de Painéis Multiplex de Marcadores
Microsatélites e Mapeamento de QTLs de tolerância à
seca e ao frio em Linhagens Puras Recombinantes de
arroz (*Oryza sativa L.*)**

Autora: Andréa Branco Schmidt
Orientador: Dr. Márcio Elias Ferreira

DOUTORADO

2009

Andréa Branco Schmidt

**Desenvolvimento de Painéis Multiplex de Marcadores
Microssatélites e Mapeamento de QTLs de tolerância à
seca e ao frio em Linhagens Puras Recombinantes de
arroz (*Oryza sativa L.*)**

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação
em Recursos Genéticos Vegetais da Universidade
Federal de Santa Catarina-RGV, como requisito
para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Márcio Elias Ferreira

Florianópolis

2009

Catálogo na fonte pela Biblioteca Universitária da
Universidade Federal de Santa Catarina

S349d Schmidt, Andréa Branco
Desenvolvimento de painéis multiplex de marcadores
microssatélites e mapeamento de QTLs de tolerância
à seca e ao frio em linhagens puras recombinantes
de arroz (*Oryza sativa* L.) [tese] / Andrea Branco
Schmidt ; orientador, Marcio Elias Ferreira. -
Florianópolis, SC , 2009.
1 v.: il., grafs., tabs., mapas

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-
Graduação em Recursos Genéticos Vegetais.

Inclui referências

1. Recursos genéticos vegetais. 2. *Oryza sativa*. 3.
Tolerância à seca. 4. Tolerância ao frio. 5. Mapeamento
de QTL. 6. Marcadores microssatélites. 7. Banco de
germoplasma. I. Ferreira, Marcio Elias. II. Universidade
Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em
Recursos Genéticos Vegetais. III. Título.

CDU 631

Dedico
À minha Mãe, Dona Aurora (*in memmoriám*),
incentivadora de um sonho que se tornou
realidade.

*“O que faz andar o barco não é a vela enfunada,
mas o vento que não se vê”.*

Platão

Agradecimentos

À Universidade Federal de Santa Catarina pelo Centro de Ciências Agrárias, aos professores e colaboradores do Programa de Pos-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, pela oportunidade e cooperação. Meus agradecimentos à Bernadete Ribas, que com empenho e paciência nos acompanha até a finalização dos trabalhos.

À Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia/Cenargen, pelo apoio no desenvolvimento dos trabalhos. Ao Projeto Orygens (Inovações genômicas para o descobrimento de genes e melhoramento genético de gramíneas) coordenado pelo Dr. Márcio Elias Ferreira, pelo suporte financeiro.

Aos pesquisadores do Núcleo Temático de Recursos Genéticos da Embrapa Cenargen, que tive a oportunidade de conviver durante o curso, pela amizade e pelo suporte que de alguma forma muitos concederam, Dario Grattapaglia, Márcio Moretzsohn, Vânia Azevedo, Ana Ciampi, Marília Pappas, José Franciso Montenegro Valls, Andréa Peñaloza, Marisa Pozzobon, Djalma Barbosa, Tania Agostini. Meus agradecimentos a Zilneide Amaral, Marco Antonio, Sileuza e Nilton (Tita). Ao Marcos Gimenes pela preciosa amizade.

À equipe de trabalho que auxiliou o desenvolvimento dos cruzamentos e fenotipagens das populações, colaboradores da Embrapa Arroz e Feijão (CNPAG-GO), colaboradores da Universidade Federal do Tocantins (UFT-TO) e da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Santa Catarina – (Epagri /Itajaí-SC). O meu especial agradecimento ao Dr. Paulo Hideo Nakano Rangel, Dr. Rubens Marshaleck e MSc. Thiago Terra.

À banca de defesa pelas sugestões e comentários, imprescindíveis para o enriquecimento deste trabalho. Ao Professor Miguel Pedro Guerra, por sua importante contribuição na relatoria da tese. Ao Emerson Limberger e Bruna pelo suporte na finalização do trabalho.

O meu sincero agradecimento à Bruna, Thaísa, Marco, Tulio, Leandro, Liamar e Justino, por terem feito parte desta etapa tão importante da minha vida, e principalmente, por continuarem fazendo parte dela. Gostaria de registrar aqui a convivência harmoniosa que tive com estes companheiros de orientação.

Aos amigos que convivi no laboratório e na sala do café, Eva, Ediene, Rodrigo, Karen, Peter, Patricia, Adriana, Valéria e Cristiani, pelo companheirismo e amizade.

Às amigas que solidifiquei apesar do pouco tempo que dediquei a elas, e que estiveram sempre na torcida, Tania, Corina, Elaine, Raquel, Maguida, Esther, Lucir, Maris, Leila, Juliana, Evandro, Luiz Antônio, Jefferson, Altamir, José Vicente, Fernando, Charles, Bruno, Luciana e Marcos, Miriam e Beto, Luciane e Isabella, Delsi e Leocir, Carol e Cesar, Cristiane e Leo, Nayara e Regisley e à família Dal Pozzo, por eu ser tão bem recebida em seus lares.

À Família Casa, que afirmo ser a minha “Família do Coração”, aos meus queridos padrinhos Leda e Adroaldo, o meu agradecimento pelo apoio, aconchego do lar e ao

carinho dedicado nos momentos mais difíceis da minha vida. À minha grande amiga Alexandra, que esteve sempre presente, me incentivando e abrindo portas.

À minha irmã Maysa, aos sobrinhos Alexandre e Hanatricia, pelo carinho e atenção dedicados mesmo com a minha ausência. Aos meus irmãos e cunhadas, Márcio e Maique, Plínio e Rosane, obrigada pela presença e pela torcida. Obrigada às minhas tias Tereza, Maria e Neiva que apesar da distância estiveram sempre presentes.

À presença do meu querido Marcel e à vinda das minhas sobrinhas Maria Clara, Ana Beatriz e Miquele, que foram presentes à nossa família e fundamentais para que esta etapa da minha vida se tornasse ainda melhor.

Quero agradecer ao mestre e amigo Dr. Márcio Elias Ferreira, pelo seu empenho para que este trabalho fosse desenvolvido com excelência. Levarei comigo um grande exemplo de trajetória profissional, exemplo de trabalho em equipe, de respeito aos colegas e de amizade. Obrigada por todas as oportunidades concedidas, fundamentais no meu crescimento profissional e pessoal, serei eternamente grata.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	x
LISTA DE FIGURAS	xvi
RESUMO	xxii
ABSTRACT	xxiv
INTRODUÇÃO	01
O arroz.....	02
Aspectos econômicos do arroz.....	03
Genoma do arroz.....	05
Tolerância ao frio.....	05
Esterilidade do pólen.....	07
Tolerância à seca.....	08
Marcadores moleculares.....	10
Mapeamento genético.....	11
Mapeamento de QTL (Quantitative Trait Loci).....	12
Mapeamento de QTLs de tolerância ao frio em arroz.....	14
Mapeamento de QTLs de tolerância à seca em arroz.....	15
PLANO DE TESE	16
CAPÍTULO I	
1.1 INTRODUÇÃO.....	19
1.2 OBJETIVO GERAL.....	22
1.2.1 Objetivos específicos.....	23
1.3 MATERIAL E MÉTODOS.....	23
1.3.1 Seleção de Marcadores Microsatélites no Genoma de Arroz.....	23
1.3.2 Extração de DNA.....	25
1.3.3 PCR e análise de fragmentos de marcadores microsatélites de arroz.....	26
1.3.4 Caracterização genética e analítica de marcadores microsatélites de arroz.....	30
1.3.5. Desenvolvimento de painéis multiplex de locos microsatélites.....	32
1.3.6 Avaliação da qualidade dos painéis multiplex de marcadores microsatélites.....	33
1.3.7. Validação de painéis multiplex de marcadores microsatélites para uso em estudos genéticos de arroz.....	33
1.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
1.4.1. Detecção de fragmentos amplificados via PCR na coleção de marcadores microsatélites distribuídos no genoma de arroz.....	42
1.4.2. Avaliação de polimorfismo e estatísticas descritivas de uma coleção de marcadores microsatélites distribuídos no genoma de arroz.....	43
1.4.3. Desenvolvimento de painéis multiplex de marcadores microsatélites.....	58
1.4.4. Avaliação do conteúdo informativo dos painéis multiplex de marcadores microsatélites.....	63
1.4.5. Validação dos painéis multiplex de marcadores microsatélites.....	68
1.4.5.1. Teste de Identidade Genética para a Detecção de Acessos Duplicados no Banco de Germoplasma de Arroz Utilizando Painéis Multiplex de Microsatélites.....	68
1.4.5.2. Estimativa do Percentual de Conversão do Genoma em Programa de Retrocruzamento para Resistência a Herbicida.....	82

1.4.5.3. Estimativa das relações de vínculo genético entre acessos do Banco de Germoplasma de Arroz.....	89
1.5. CONCLUSÕES.....	95

CAPÍTULO II

2.1 JUSTIFICATIVA.....	96
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	98
2.2.2 Material Biológico: População de Linhagens Puras Recombinantes de Arroz (RIL - Recombinant Inbred Lines)	98
2.2.3 Extração de DNA.....	99
2.2.4 PCR e análise de fragmentos de marcadores microsatélites de arroz.....	100
2.2.5 Avaliação da população F2 resultante do cruzamento Chorinho x Amaro.....	101
2.2.6 Genotipagem da população RIL Chorinho x Amaro com marcadores microsatélites.....	101
2.3 Construção de mapa de ligação.....	102
2.4 Avaliação fenotípica.....	103
2.4.1 Avaliação da população RIL Chorinho x Amaro para tolerância ao frio em condições de campo.....	103
2.4.2 Avaliação da população RIL Chorinho x Amaro para tolerância ao frio em condições controladas.....	105
2.4.3 Análise estatística dos dados fenotípicos de tolerância ao frio coletados no campo e em condições controladas.....	108
2.4.5 Mapeamento de QTLs de tolerância ao frio.....	109
2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	112
2.6. Genotipagem da população RIL Chorinho x Amaro.....	112
2.7 Construção de mapa genético com base na população RIL Chorinho x Amaro.....	113
2.8 Mapeamento genético de regiões genômicas associadas ao controle de tolerância a frio com base em dados fenotípicos coletados no campo.....	115
2.8.1 Análise fenotípica de tolerância ao frio a campo.....	115
2.8.2 Mapeamento de QTLs de tolerância ao frio com base em dados coletados em condições de campo.....	124
2.9 Mapeamento genético de regiões genômicas associadas ao controle de tolerância a frio com base em dados fenotípicos sob condições controladas.....	138
2.9.1 Mapeamento de QTLs de tolerância ao frio com base em dados de Germinação e Capacidade de Recuperação de Crescimento de Plântulas coletados em condições controladas.....	152
2.10 CONCLUSÕES.....	164

CAPÍTULO III

3.1 JUSTIFICATIVA.....	165
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	166
3.2.1 Material Biológico: População de Linhagens Puras Recombinantes de Arroz (RIL - Recombinant Inbred Lines).....	166
3.2.3 Extração de DNA.....	167
3.2.2 PCR e análise de fragmentos de marcadores microsatélites de arroz.....	168
3.2.4 Genotipagem da população RIL Chorinho x Puteca com marcadores microsatélites.....	169
3.2.5 Construção de mapa de ligação.....	170
3.2.6 Avaliação fenotípica da população RIL Chorinho x Puteca para tolerância à seca em condições de campo.....	171

3.2.7	Análise estatística dos dados fenotípicos de tolerância à seca coletados no campo.....	174
3.2.8	Mapeamento de QTLs de tolerância à seca.....	175
3.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	176
3.3.1	Genotipagem da população RIL Chorinho x Puteca e construção de uma mapa genético.....	176
3.3.2	Mapeamento genético de regiões genômicas associadas ao controle de tolerância à seca com base em dados fenotípicos coletados no campo.....	178
3.3.2.1	Análise fenotípica de tolerância à seca no campo.....	178
3.3.3	Análise de QTL de tolerância à seca na população RIL Chorinho x Puteca baseada em características radiculares avaliadas sob condição de estresse hídrico na profundidade de 20 a 40 cm do solo.....	197
3.3.4	Análise de QTL de tolerância à seca na população RIL Chorinho x Puteca baseada em características radiculares avaliadas sob condição de estresse hídrico na profundidade de 40 a 60 cm do solo.....	204
3.4	CONCLUSÕES.....	217
	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	218
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	221
	ANEXOS.....	241
	Anexo 1 - Planilha de genotipagem de 28 acessos do banco de germoplasma.....	242
	Anexo 2 - Dados de genotipagem de 28 acessos do Banco de Germoplasma de Arroz com 34 locos microssatélites localizados na região de genes da via metabólica de amido.....	285
	Anexo 3 - Dados genotípicos de linhagens puras recombinantes (RILs) para tolerância ao frio com a utilização de marcadores microssatélites.....	288
	Anexo 4 - Valores fenotípicos de linhagens RILs para tolerância ao frio em condições de campo.....	322
	Anexo 5 - Valores médios de Crescimento de Raiz das linhagens RILs para tolerância ao frio em condições controladas.....	326
	Anexo 6 - Valores médios de Crescimento de Parte Aérea das linhagens RILs para tolerância ao frio em condições controladas.....	330
	Anexo 7 - Valores médios de Recuperação do Crescimento de raiz das linhagens RILs para tolerância ao frio em condições controladas.....	334
	Anexo 8 - Valores médios de Recuperação do Crescimento de Parte Aérea das linhagens RILs para tolerância ao frio em condições controladas.....	338
	Anexo 9 - Valores médios das avaliações radiculares das linhagens RILs para tolerância à seca em duas profundidades de solo em condição de estresse por restrição hídrica.....	342
	Anexo 10 - Valores médios das avaliações radiculares das linhagens RILs para tolerância à seca em duas profundidades de solo sem restrição hídrica.....	347

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Acessos do Banco de Germoplasma de Arroz (Amostra 28) usados na avaliação dos 441 marcadores microssatélites distribuídos no genoma de arroz.....	27
Tabela 2 - Acessos de variedades tradicionais de arroz (Amostra 13) coletadas no território brasileiro apresentando a mesma denominação comum na COLBASE (Coleção de Base de Arroz), com potencial indício de duplicação do mesmo genótipo na coleção.....	35
Tabela 3 - Acessos de arroz (Amostra 41) com variabilidade genética para resistência à brusone e tolerância à seca e ao frio, pertencentes ao Banco de Germoplasma de Arroz.....	41
Tabela 4 - Estimativa de parâmetros genéticos de 441 locos de marcadores microssatélites distribuídos no genoma de arroz. As estimativas são baseadas em uma amostra de 26 acessos da espécie com diversidade genética e variabilidade fenotípica para características de interesse econômico (ex. tolerância à seca, tolerância ao frio).....	44
Tabela 5 - Os painéis D, E, F, G, H, M, N e O combinam 41 locos microssatélites marcados com os fluorocromos 6-FAM, HEX e NED, e distribuídos em 12 cromossomos de arroz. O painel O apresenta locos em comum com os demais painéis.....	60
Tabela 6 - Estatísticas descritivas dos marcadores que compõem os Painéis multiplex de microssatélites D,E,F, G, H, I, N e O, incluindo as Probabilidades de Identidade (PI) e de Exclusão (PE), obtidas pela genotipagem de acessos do Banco de Germoplasma de Arroz (Amostra 28).....	64
Tabela 7 - Genótipos multiloco de marcadores que compõem os Painéis G, H e I utilizado para a avaliação de variedades tradicionais de arroz com acessos repetidos na Coleção de Base (COLBASE) da Embrapa.....	69
Tabela 8 - Perfil genético multiloco de linhagens quase isogênicas (CNA10754 e CNA10756), parental recorrente (BRS 7 Taim), parental doadora (93AS3510) e controle (Nipponbare) em programa de retrocruzamento para tolerância a herbicida da classe imidazolinona.....	84
Tabela 9 - Perfil genético multiloco de linhagens quase isogênicas (CNA10757 e CNA10758), parental recorrente (BRS Pelota), parental doadora (93AS3510) e controle (Nipponbare) em programa de retrocruzamento para tolerância a herbicida da classe imidazolinona.....	86
Tabela 10 - Estimativas de parâmetros genéticos para marcadores microssatélites que compõem os Painéis D, E, F, G, H, I, N e O obtidas com amostra de acessos de arroz que apresentam variabilidade genética para tolerância à seca, ao frio e à brusone (Amostra 41).....	92
Tabela 11 - Análise de variância de características fenotípicas de linhagens RILs sob condição de estresse de frio a campo. Onde: PTP=Peso Total de Panícula; PPP=Peso Parcial de Panícula; KgPPP=Produtividade Parcial; KGPTP=Produtividade Total; NGC=Número de Grãos Cheios; PGC=Peso de Grãos Cheios; NGV=Número de Grãos Vazios; PGV=Peso de Grãos Vazios; VP=Viabilidade de Pólen.....	117

Tabela 12 - Valores médios dos fenótipos avaliados nos parentais dos cruzamentos e linhagens puras recombinantes sob condição de estresse por frio. Onde: PTP=Peso Total de Panícula; PPP=Peso Parcial de Panícula; KgPPP=Produtividade Parcial; KGPTP=Produtividade Total; NGC=Número de Grãos Cheios; PGC=Peso de Grãos Cheios; NGV=Número de Grãos Vazios; PGV=Peso de Grãos Vazios; VP=Viabilidade de Pólen.....	117
Tabela 13 - Valores de simetria e curtose para a distribuição de frequência das características fenotípicas de linhagens puras recombinantes (RIL-F7) sob de estresse por frio a campo.....	118
Tabela 14 - Coeficientes de correlação de Pearson (R^2) para parâmetros de produtividade e viabilidade de pólen em condições de campo.....	120
Tabela15 - Locos microssatélites com evidência de associação à característica Viabilidade de Pólen com base em valores estimados de χ^2 (com correção de Yates) e de testes exatos de Fisher.....	124
Tabela 16 - Marcadores associados à característica de Viabilidade de Pólen sob condição de estresse por frio no campo pela Análise de Marca Simples.....	125
Tabela 17 - Informações sobre os QTLs identificados pelo modelo de Mapeamento por Intervalo Composto para a característica de Viabilidade de Pólen em linhagens sob estresse por frio a campo.....	125
Tabela 18 - Marcadores associados à característica de Peso Total de Panícula sob condição de estresse por frio a campo pela análise de marca simples.....	126
Tabela 19 - Informações sobre o QTL identificado pelo modelo de Mapeamento por Intervalo Composto para Peso Total de Panícula em linhagens sob estresse por frio a campo.....	127
Tabela 20 - Marcadores associados à característica de Peso Parcial de Panícula sob condição de estresse por frio a campo pela análise de marca simples.....	127
Tabela 21 - QTLs associados à característica de Peso Parcial de Panícula em linhagens submetidas a estresse por frio a campo detectados por Mapeamento de Intervalo Composto.....	128
Tabela 22 - Marcadores associados à característica Produtividade Parcial sob condição de estresse por frio a campo pela análise de marca simples.....	129
Tabela 23 - Dados sobre QTLs detectados para a característica de Produtividade Parcial para tolerância ao frio a campo, em Mapeamento de Intervalo Composto.....	129
Tabela 24 - Marcadores associados à característica de Produtividade Total sob condição de estresse por frio a campo pela análise de Marca Simples.....	130
Tabela 25 - QTLs associados a Produtividade Total de panícula identificados pelo modelo de Mapeamento por Intervalo Composto em linhagens de arroz sob estresse por frio a campo.....	131
Tabela 26 - Marcadores associados à característica de Número de Grãos Cheios sob condição de estresse por frio pela análise de marca simples.....	131
Tabela 27 - Dados sobre QTLs detectados para a Número de Grãos Cheios em linhagens sob estresse por frio a campo, em Mapeamento de Intervalo Composto e Intervalo Múltiplo.....	132

Tabela 28 - Marcadores associados à característica de Peso de Grãos Cheios sob condição de estresse por frio pela análise de Marca Simples.....	133
Tabela 29 - Informações sobre QTL identificado pelo modelo de Mapeamento por Intervalo Múltiplo para a característica de Peso de Grãos Cheios em linhagens sob estresse por frio a campo.....	133
Tabela 30 - Marcadores associados à característica de Número de Grãos Vazios sob condição de estresse por frio pela análise de marca simples.....	134
Tabela 31 - Marcadores associados à característica de Peso de Grãos Vazios sob condição de estresse por frio pela análise de Marca Simples.....	134
Tabela 32 - QTL associado a Peso de Grãos Vazios em linhagens sob estresse por frio a campo pelo modelo de Mapeamento de Intervalo Composto.....	135
Tabela 33 - QTLs associados a componentes de produtividade de linhagens arroz sob estresse por frio a campo detectados por Mapeamento de Intervalo Composto.....	136
Tabela 34 - Regiões comuns de QTL para tolerância ao frio descrita para diferentes populações submetidas a estresse de baixa temperatura em diferentes estádios de desenvolvimento da planta.....	137
Tabela 35 - Análise de variância de parâmetros radiculares relativos mensurados durante a Germinação das Plântulas de linhagens RILs submetidas a tratamentos com e sem estresse por frio.....	141
Tabela 36 - Valores médios de parâmetros radiculares relativos mensurados durante a Germinação das Plântulas nas cultivares parentais Chorinho e Amaro submetidas a tratamentos com e sem estresse por frio.....	141
Tabela 37 - Análise de variância de parâmetros de parte aérea relativos mensurados durante a Germinação das Plântulas de linhagens RILs submetidas a tratamentos com e sem estresse por frio.....	142
Tabela 38 - Valores médios de parâmetros de parte aérea relativos mensurados durante a Germinação das Plântulas nas cultivares parentais Chorinho e Amaro submetidas a tratamentos com e sem estresse por frio.....	142
Tabela 39 - Valores de simetria e curtose para a distribuição de frequência de parâmetros radiculares mensurados durante a Germinação de Plântula de linhagens puras recombinantes (RIL-F7) sob condição controle.....	143
Tabela 40 - Valores de simetria e curtose para a distribuição de frequência de parâmetros de parte mensurados durante a Germinação de Plântula de linhagens puras recombinantes (RIL-F7) sob de estresse por frio em condições controladas.....	143
Tabela 41 - Coeficientes de correlação de Pearson (R^2) entre parâmetros de raiz (vertical) e parte aérea (horizontal) mensurados após tratamento de estresse por frio em estágio de Germinação de plântula.....	146
Tabela 42 - Análise de variância de parâmetros radiculares relativos mensurados para avaliar a Capacidade de Recuperação do Crescimento de Plântulas de linhagens RILs submetidas a tratamentos com e sem estresse por frio.....	147

Tabela 43 - Valores médios de parâmetros radiculares relativos mensurados para avaliar a Capacidade de Recuperação do Crescimento de Plântulas das cultivares parentais Chorinho e Amaro submetidas a tratamentos com e sem estresse por frio.....	147
Tabela 44 - Análise de variância de parâmetros de parte aérea relativos mensurados para avaliar a Capacidade de Recuperação do Crescimento de Plântulas de linhagens RILs submetidas a tratamentos com e sem estresse por frio.....	148
Tabela 45 - Valores médios de parâmetros de parte aérea relativos mensurados para avaliar a Capacidade de Recuperação do Crescimento de Plântula das cultivares parentais Chorinho e Amaro submetidas a tratamentos com e sem estresse por frio.....	148
Tabela 46 - Valores de simetria e curtose para a distribuição de frequência de parâmetros radiculares mensurados para avaliar a Capacidade de Recuperação do Crescimento de Plântula de linhagens puras recombinantes (RIL-F7) sob condição controle e condições controladas.....	149
Tabela 47 - Valores de simetria e curtose para a distribuição de frequência de parâmetros de parte aérea mensurados para avaliar a Capacidade de Recuperação do Crescimento de Plântula de linhagens puras recombinantes (RIL-F7) sob de estresse por frio em condições controladas.....	149
Tabela 48 - Coeficientes de correlação de Pearson (R^2) entre parâmetros de raiz (vertical) e parte aérea (horizontal) mensurados após tratamento de estresse por frio em estágio de Germinação de plântula para capacidade de recuperação do crescimento.....	152
Tabela 49 - Marcadores microssatélites associados à característica Comprimento de raiz e parte aérea sob condição de estresse de frio nas avaliações de Germinação de Plântula e Capacidade de Recuperação do Crescimento de Plântula pela análise de Marca Simples.....	153
Tabela 50 - Mapeamento de QTLs associados à característica Comprimento de raiz e parte aérea sob condição de estresse de frio nas avaliações de Germinação de Plântula e Capacidade de Recuperação do Crescimento de Plântula pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto.....	154
Tabela 51 - Marcadores microssatélites associados à característica Área Projetada de raiz e parte aérea sob condição de estresse de frio nas avaliações de Germinação de Plântula e Capacidade de Recuperação do Crescimento de Plântula pela análise de Marca Simples.....	157
Tabela 52 - Mapeamento de QTLs associados à característica Área Projetada de raiz e parte aérea sob condição de estresse de frio nas avaliações de Germinação de Plântula e Capacidade de Recuperação do Crescimento de Plântula pelo modelo de Mapeamento de Intervalo Composto.....	158
Tabela 53 - Marcadores associados à característica de área superficial de raiz e área superficial sob condição de estresse nas avaliações de crescimento e recrescimento pela análise de marca simples.....	159
Tabela 54 - Dados sobre QTLs detectados para a característica de área superficial em linhagens sob estresse por frio em câmara fria detectados pelo modelo de Mapeamento de Intervalo Composto.....	159
Tabela 55 - Análise de variância de características fenotípicas da população RIL Chorinho x Puteca em tratamentos com e sem estresse por seca na profundidade de 20 a 40 cm de solo.....	185

Tabela 56 - Valores fenotípicos médios avaliados sob condição de estresse hídrico nos parentais dos cruzamentos e linhagens puras recombinantes na profundidade de 20 a 40 cm.....	186
Tabela 57 - Análise de variância de características fenotípicas da população RIL Chorinho x Puteca em tratamentos com e sem estresse por seca na profundidade de 40 a 60 cm de solo.....	186
Tabela 58 - Valores fenotípicos médios avaliados sob condição de estresse por seca nos parentais dos cruzamentos e linhagens puras recombinantes na profundidade de 40 a 60 cm.....	187
Tabela 59 - Valores de simetria e curtose da distribuição de características fenotípicas de raízes de linhagens puras recombinantes (RIL-F7) na condição controle (sem estresse hídrico) avaliadas na profundidade de 20 a 40 cm.....	188
Tabela 60 - Valores de simetria e curtose da distribuição de características fenotípicas de raízes de linhagens puras recombinantes (RIL-F7) sob tratamento de estresse hídrico avaliadas na profundidade de 20 a 40 cm.	188
Tabela 61 - Valores de simetria e curtose da distribuição de características fenotípicas de raízes de linhagens puras recombinantes (RIL-F7) na condição controle (sem estresse) na profundidade de 40 a 60 cm.	191
Tabela 62 - Valores de simetria e curtose da distribuição de características fenotípicas de raízes de linhagens puras recombinantes (RIL-F7) sob tratamento de estresse de seca na profundidade de 40 a 60 cm.	191
Tabela 63 - Coeficientes de correlação de Pearson (R^2) entre os 10 parâmetros avaliados sob tratamento de estresse em diferentes profundidades de solo. De 20 a 40 cm (diagonal superior) e de 40 a 60 cm (diagonal inferior)	195
Tabela 64 - Coeficientes de correlação de Pearson (R^2) de 10 parâmetros avaliados entre as diferentes profundidades de solo (20 a 40 cm e 40 a 60 cm) sob estresse hídrico no campo.....	196
Tabela 65 - Marcadores associados à característica de Comprimento de raiz na população RIL Chorinho x Puteca sob condição de estresse por seca pela análise de Marca Simples (profundidade do solo: 20-40cm)	197
Tabela 66 - QTLs detectados para a característica de Comprimento de raiz na população RIL Chorinho x Puteca submetida a estresse de seca na profundidade de 20 a 40 cm pelo modelo de Mapeamento de Intervalo Composto.	197
Tabela 67 - Marcadores associados à característica Área Projetada de raiz na população RIL Chorinho x Puteca sob condição de estresse por seca pela análise de Marca Simples (profundidade do solo: 20-40cm)	199
Tabela 68 - QTLs detectados para a característica de Área Projetada de raiz na população RIL Chorinho x Puteca submetida a estresse de seca na profundidade de 20 a 40 cm pelo modelo de Mapeamento de Intervalo Composto.	199
Tabela 69 - Marcadores associados à característica Área Superficial de raiz na população RIL Chorinho x Puteca sob condição de estresse por seca pela análise de Marca Simples (profundidade do solo: 20-40cm)	200

Tabela 70 - QTLs detectados para a característica de Área Superficial de raiz na população RIL Chorinho x Puteca submetida a estresse de seca na profundidade de 20 a 40 cm pelo modelo de Mapeamento de Intervalo Composto.	201
Tabela 71 - Marcadores associados à característica Diâmetro Médio de raiz na população RIL Chorinho x Puteca sob condição de estresse por seca pela análise de Marca Simples (profundidade do solo: 20-40cm)	202
Tabela 72 - Marcadores associados à característica Volume de raiz na população RIL Chorinho x Puteca sob condição de estresse por seca pela análise de Marca Simples (profundidade do solo: 20-40cm)	203
Tabela 73 - QTL detectado para a característica Volume de raiz na população RIL Chorinho x Puteca submetida a estresse de seca na profundidade de 20 a 40 cm pelo modelo de Mapeamento de Intervalo Composto.	203
Tabela 74 - Marcadores associados à característica de Comprimento de raiz na população RIL Chorinho x Puteca sob condição de estresse por seca pela análise de Marca Simples (profundidade do solo: 40-60cm)	205
Tabela 75 - QTLs detectados para a característica de Comprimento de raiz na população RIL Chorinho x Puteca submetida a estresse de seca na profundidade de 40 a 60 cm pelo modelo de Mapeamento de Intervalo Composto.	205
Tabela 76 - Marcadores associados à característica Área Projetada de raiz na população RIL Chorinho x Puteca sob condição de estresse por seca pela análise de Marca Simples (profundidade do solo: 40-60cm)	206
Tabela 77 - QTLs detectados para a característica de Área Projetada de raiz na população RIL Chorinho x Puteca submetida a estresse de seca na profundidade de 40 a 60 cm pelo modelo de Mapeamento de Intervalo Composto.	207
Tabela 78 - Marcadores associados à característica Área Superficial de raiz na população RIL Chorinho x Puteca sob condição de estresse por seca pela análise de Marca Simples (profundidade do solo: 40-60cm)	208
Tabela 79 - Marcadores associados à característica Diâmetro Médio de raiz na população RIL Chorinho x Puteca sob condição de estresse por seca pela análise de Marca Simples (profundidade do solo: 40-60cm)	208
Tabela 80 - QTLs detectados para a característica de Diâmetro Médio de raiz na população RIL Chorinho x Puteca submetida a estresse de seca na profundidade de 40 a 60 cm pelo modelo de Mapeamento de Intervalo Composto.	209
Tabela 81 - Marcadores associados à característica Volume de raiz na população RIL Chorinho x Puteca sob condição de estresse por seca pela análise de Marca Simples (profundidade do solo: 40-60cm)	210
Tabela 82 - QTLs de tolerância à seca na população RIL Chorinho x Puteca submetida a estresse de seca no campo.....	211
Tabela 83 - Regiões comuns de QTL para tolerância à seca descrita para diferentes populações (cruzamentos), ambientes de avaliação e estádios de desenvolvimento da planta.....	212

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Variedades tradicionais de arroz germinadas em bandeja com o uso de 60 sementes por variedade (>50 plantas) com 3-4 semanas de idade para coleta combinada em “bulk” usadas para extração de DNA.....38
- Figura 2 - Genótipos da cultivar padrão Nipponbare nos locos microssatélite RM226, RM5122 e RM307 (cromossomos 9, 2 e 4, respectivamente). A análise do produto de PCR de 451 marcadores microssatélites apresentou, na grande maioria dos ensaios, qualidade e consistência na amplificação dos fragmentos de tamanho esperado.....42
- Figura 3 - (a) Análise de coordenadas principais de 405 marcadores microssatélites de arroz utilizados para genotipar amostras do Banco de Germoplasma de Arroz (Amostra 28). Valores de autovetores dos eixos X, Y e Z são apresentados para cada marcador; (b) Plotagem dos valores de autovetores nos eixos X e Y.....54
- Figura 4 - Ensaios de PCR com 41 marcadores microssatélites selecionados para o desenvolvimento de painéis de amplificação simultânea de alelos em locos distintos. DNA extraído de cultivares de arroz foi utilizado em reações com cada um dos marcadores individualmente, confirmando o tamanho esperado do produto de PCR em cada loco.....56
- Figura 5 - (a) Painel pentaplex com reação de PCR baseada em soluções preparadas no laboratório (“caseira”) usado na genotipagem da cultivar padrão Nipponbare; (b) O mesmo painel usado na genotipagem da cultivar padrão Nipponbare, mas com protocolo baseado no kit QIAGEN® Multiplexer PCR.....59
- Figura 6 - Composição dos motivos dos 41 marcadores microssatélites selecionados para desenvolver os painéis multiplex D, E, F, G, H, I, N, O.....60
- Figura 7 - Genotipagem de cultivares de arroz com painéis multiplex de marcadores microssatélites (Painéis D, E, F, G, H, I, N, O).....62
- Figura 8 - Desenho esquemático da distribuição dos marcadores microssatélites que compõem os oito Painéis Multiplex (D, E, F, G, H, I, N, O) nos 12 cromossomos de arroz.....66
- Figura 9 - Análise de similaridade genética entre acessos com denominação comum repetida na Coleção de Base de Arroz. A numeração de identificação dos acessos segue o descrito na Tabela 2.....77
- Figura 10 - A Coleção de Base de Arroz apresenta vários acessos com a mesma denominação comum. Alguns desses nomes, como Lageado, não são óbvios para uma cultivar de arroz e constituem bons exemplos para testar a duplicidade de acessos no banco de germoplasma. Os eletroferogramas acima apresentam o genótipo de seis variedades tradicionais com a denominação “Lageado” apresentando o mesmo perfil genético multiloco em cinco locos que compõem o Painel G.....78
- Figura 11 - Quatro painéis multiplexes com fluorescências 6-fam, hex e ned em linhagens quase isogênicas de tolerância à herbicida (7 genótipos) em seqüenciador automático de DNA ABI377. Nipponbare foi usado como genótipo controle (pista 8).....82

- Figura 12 - Dendrograma derivado estimativas de distância genética pelo coeficiente SAD (*Shared Allele Distance*) e análise de agrupamento pelo método Neighbor-Joining de 27 acessos das subespécies *indica* e *japonica* de arroz, incluindo quatro novas linhagens de arroz tolerantes a herbicida imidazolinona (CNA 10754, CNA 10756, CNA 10757 e CNA 10758). A análise de polimorfismo de DNA entre os acessos foi baseada em 44 locos de marcadores microssatélites distribuídos no genoma de arroz.....88
- Figura 13 - Valores de similaridade de uma matriz simétrica obtida com a genotipagem de 28 acessos de arroz com 405 marcadores microssatélites (eixo X) com uma matriz simétrica de similaridade obtida com os Painéis E, H e I (eixo Y). Os círculos achurados representam os valores de similaridade da cultivar Chorinho em comparações par-a-par com os demais acessos (Mantel $r=0,695$).....89
- Figura 14 - Dendrogramas de similaridade genética entre 28 acessos do Banco de Germoplasma baseados em 405 marcadores microssatélites (superior) e 18 marcadores distribuídos nos Painéis E, H e I (inferior).....91
- Figura 15 - Dendrograma de similaridade genética entre 41 acessos do Banco de Germoplasma baseados em 8 Painéis multiplex de marcadores microssatélites (Painéis D, E, F, G, H, I, N, O).....94
- Figura 16 - Separação de produtos de PCR através de eletroforese em sequenciador automático (ABI 377). Uma amostra de 50 indivíduos F2 do cruzamento entre Chorinho e Amaroó é analisada com três marcadores microssatélites marcados com diferentes fluorescências (verde, azul e amarelo) em sistema multiplex. Marcador de tamanho de fragmento conhecido (Rox) é visualizado em vermelho.....112
- Figura 17 - Imagem em gel de poliacrilamida (4%) com amplificadas de regiões microssatélites de linhagens puras recombinantes – RILs. Linhagens contaminantes (254 e 311) nas pistas 6 e 58 para os locos RM222 (6-FAM 197-203pb), RM235 (6-FAM 94 e 98 pb) e RM481 (Ned 172-178 pb). Indivíduos heterozigotos nas pistas 14, 25, 40 e 69.....113
- Figura 18 - Mapa genético de *Oryza sativa* baseado na população RIL Chorinho x Amaroó. O mapa é composto de 135 marcadores microssatélites distribuídos em 12 cromossomos. Em cada representação cromossômica, a distância de mapa é expressa em cM à esquerda, com os locos de marcadores microssatélites descritos à direita. O comprimento total do mapa é de 1.278 cM.....114
- Figura 19 - Temperatura máxima e mínima registrada na Estação Experimental da Epagri (Itajaí-SC) durante o experimento de tolerância ao frio em condições de campo utilizando a população RIL Chorinho x Amaroó. O período de florescimento da população segregante ocorreu nas primeiras semanas de maio de 2008.....116
- Figura 20 - Distribuição das freqüências das características fenotípicas avaliadas no campo sob estresse de frio na população RIL Chorinho x Amaroó.....119
- Figura 21 - (a) Imagens de panículas dos parentais do cruzamento sob tratamento de estresse com frio a campo. (b) Imagens de lâminas com pólen corado com iodeto de potássio iodado (lugol 1%) e glicerina (1:1) submetidos a estresse de frio no campo.....121
- Figura 22 - Gráficos de dispersão de resíduos de nove características fenotípicas das linhagens puras recombinantes sob condição de estresse por frio.....123

- Figura 23 - QTLs relacionados com Viabilidade de Pólen sob estresse por frio no campo localizados nos grupos de ligação 3, 8, 9 e 11 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto. O Valor de LOD crítico utilizado foi de 2,5, representado pela linha horizontal.....126
- Figura 24 - QTL associado a Peso Total de Panícula sob estresse por frio, localizado no grupo de ligação 2 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto. O valor crítico de LOD utilizado foi de 2,5, representado pela linha horizontal.....127
- Figura 25 - QTLs identificados para Peso Parcial de Panícula sob estresse por frio, detectados nos grupos de ligação 1 e 11 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto. O valor crítico de LOD utilizado foi de 2,5, representado pela linha horizontal.....128
- Figura 26 - QTLs identificados para Produtividade Parcial sob estresse por frio a campo nos grupos de ligação 2 e 10 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto. O valor crítico de LOD utilizado foi de 2,5, representado pela linha horizontal.....130
- Figura 27 - QTLs identificados para Produtividade Total sob estresse por frio nos grupos de ligação 2 e 10 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto. O valor crítico de LOD utilizado foi de 2,5, representado pela linha horizontal.....131
- Figura 28 - QTLs identificados para Número de Grãos Cheios sob estresse por frio nos grupos de ligação 8 e 10 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto. O valor crítico de LOD utilizado foi de 2,5, representado pela linha horizontal.....132
- Figura 29 - QTL identificado para Peso de Grãos Cheios sob estresse por frio no cromossomo 5 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto. O valor crítico de LOD utilizado foi de 2,5, representado pela linha horizontal.....133
- Figura 30 - QTL relacionado com a característica de Peso de Grãos Vazios sob estresse de frio localizado no cromossomo 1, detectado pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto. O Valor crítico de LOD utilizado foi de 2,5, representado pela linha horizontal em vermelho.....135
- Figura 31 - Desenvolvimento de plântulas da população RIL Chorinho x Amaro submetidas a estresse de frio em câmara de crescimento: (a) linhagem suscetível e (b) linhagem tolerante.....140
- Figura 32 - Distribuição das freqüências de parâmetros radiculares relativos durante a Germinação de Plântulas de linhagens puras recombinantes (RIL-F7) sob estresse de frio. Comp=Comprimento de Raiz; ArPr= Área Projetada de Raiz; ArSu=Área Superficial de Raiz; DiaM=Diâmetro Médio de Raiz; Vol=Volume de Raiz.....144
- Figura 33 - Distribuição das freqüências de parâmetros de parte aérea relativos durante a Germinação de Plântulas de linhagens puras recombinantes (RIL-F7) sob estresse de frio. Comp=Comprimento de Raiz; ArPr= Área Projetada de Raiz; ArSu=Área Superficial de Raiz; DiaM=Diâmetro Médio de Raiz; Vol=Volume de Raiz.....145
- Figura 34 - Distribuição das freqüências de parâmetros de raiz relativos durante a avaliação da Capacidade de Recuperação do Crescimento de Plântulas de linhagens puras recombinantes (RIL-F7) sob estresse de frio. Comp=Comprimento de Raiz; ArPr= Área Projetada de Raiz; ArSu=Área Superficial de Raiz; DiaM=Diâmetro Médio de Raiz; Vol=Volume de Raiz.....150
- Figura 35 - Distribuição das freqüências de parâmetros de parte aérea relativos durante a avaliação da Capacidade de Recuperação do Crescimento de Plântulas de linhagens puras recombinantes (RIL-F7) sob estresse de frio. Comp=Comprimento de Raiz; ArPr= Área Projetada de Raiz;

ArSu=Área Superficial de Raiz; DiaM=Diâmetro Médio de Raiz; Vol=Volume de Raiz.....151

Figura 36 - QTLs identificados para a característica de Comprimento de raiz e parte aérea sob condição de estresse por frio, detectados no cromossomo 3 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto. O Valor de LOD utilizado foi de 2,5, representado pela linha horizontal. Onde: Comp-R-Germinação=Comprimento de raiz na Germinação da Plântula; Comp-PA-Germinação= Comprimento de parte aérea na Germinação da Plântula; Comp-R-Recuperação= Comprimento de raiz na Capacidade de Recuperação do Crescimento da Plântula ; Comp-PA-Recuperação= comprimento de parte aérea na Capacidade de Recuperação do Crescimento da Plântula.....155

Figura 37 - QTLs identificados para a característica de Comprimento de raiz e parte aérea sob condição de estresse por frio, detectados no cromossomo 7 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto. O Valor de LOD utilizado foi de 2,5, representado pela linha horizontal. Onde: Comp-R-Germinação=Comprimento de raiz na Germinação da Plântula; Comp-PA-Germinação= Comprimento de parte aérea na Germinação da Plântula; Comp-R-Recuperação= Comprimento de raiz na Capacidade de Recuperação do Crescimento da Plântula; Comp-PA-Recuperação= comprimento de parte aérea na Capacidade de Recuperação do Crescimento da Plântula.....156

Figura 38 - QTLs identificados para a característica de Área Projetada de raiz e parte aérea sob condição de estresse por frio, detectados no cromossomo 7 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto. O Valor de LOD utilizado foi de 2,5, representado pela linha horizontal. ArPr-R-Germinação=Área projetada de raiz na Germinação da Plântula;ArPr-PA-Germinação= Área projetada de parte aérea na Germinação da Plântula; ArPr-R-Recuperação= Área projetada de raiz na Capacidade de Recuperação do Crescimento da Plântula; ArPr-PA-Recuperação=Área projetada de parte aérea na Capacidade de Recuperação do Crescimento da Plântula.....158

Figura 39 - QTLs identificados para a característica de Área Superficial de raiz e parte aérea sob condição de estresse por frio, detectados no cromossomo 3 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto. O Valor de LOD utilizado foi de 2,5, representado pela linha horizontal. ArSu-R-Germinação=Área superficial de raiz na Germinação da Plântula;ArSu-PA-Germinação= Área superficial de parte aérea na Germinação da Plântula; ArSu-R-Recuperação= Área superficial de raiz na Capacidade de Recuperação do Crescimento da Plântula; ArSu-PA-Recuperação=Área superficial de parte aérea na Capacidade de Recuperação do Crescimento da Plântula.....160

Figura 40 - QTLs identificados para a característica de Área Superficial de raiz e parte aérea sob condição de estresse por frio, detectados no cromossomo 7 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto. O Valor de LOD utilizado foi de 2,5, representado pela linha horizontal. ArSu-R-Germinação=Área superficial de raiz na Germinação da Plântula;ArSu-PA-Germinação= Área superficial de parte aérea na Germinação da Plântula; ArSu-R-Recuperação= Área superficial de raiz na Capacidade de Recuperação do Crescimento da Plântula; ArSu-PA-Recuperação=Área superficial de parte aérea na Capacidade de Recuperação do Crescimento da Plântula.....161

Figura 41a - Mapa genético de *Oryza sativa* baseado na população RIL Chorinho x Amaro com representação dos QTLs (barra à direita da representação cromossômica) e marcadores (marcados com estrela) associados a componentes de produtividade e viabilidade de pólen de linhagens arroz sob estresse por frio a campo e a características radiculares e de parte aérea em análises sob condições controladas. Características avaliadas no campo: PTP=Peso Total de Panícula; PPP=Peso Parcial de Panícula; KgPPP=Produtividade Parcial; KgPTP=Produtividade Total; NGC=Número de Grãos Cheios; PGC=Peso de Grãos Cheios; NGV=Número de Grãos Vazios;

PGV=Peso de Grãos Vazios; VP=Viabilidade de Pólen. Características avaliadas em condições controladas: Comp= Comprimento; ArPr= Área Projetada; ArSu= Área Superficial; DiaM= Diâmetro médio; Vol= Volume.....162

Figura 41b - Figura 41 - Mapa genético de *Oryza sativa* baseado na população RIL Chorinho x Amaro com representação dos QTLs (barra à direita da representação cromossômica) e marcadores (marcados com estrela) associados a componentes de produtividade e viabilidade de pólen de linhagens arroz sob estresse por frio a campo e a características radiculares e de parte aérea em análises sob condições controladas. Características avaliadas no campo: PTP=Peso Total de Panícula; PPP=Peso Parcial de Panícula; KgPPP=Produtividade Parcial; KgPTP=Produtividade Total; NGC=Número de Grãos Cheios; PGC=Peso de Grãos Cheios; NGV=Número de Grãos Vazios; PGV=Peso de Grãos Vazios; VP=Viabilidade de Pólen. Características avaliadas em condições controladas: Comp= Comprimento; ArPr= Área Projetada; ArSu= Área Superficial; DiaM= Diâmetro médio; Vol= Volume.....163

Figura 42 - Mapa genético de *Oryza sativa* baseado na população RIL Chorinho x Puteca (Pessoa Filho, 2008). O mapa é composto de 73 marcadores microssatélites. Em cada representação cromossômica, a distância de mapa é expressa em cM à esquerda, com os locos de marcadores microssatélites descritos à direita. O comprimento total do mapa é de 897,5 cM.177

Figura 43 - Imagens digitalizadas de amostras de raiz em linhagens da população RIL Chorinho x Puteca que são (a) suscetível e (b) tolerante a estresse de seca no campo. As amostras foram coletadas na profundidade 20-40 cm (superior) e 40-60 cm (inferior).....179

Figura 44 - Gráficos de dispersão de resíduos de cinco características radiculares sob tratamento sem estresse por seca (controle) na profundidade de 20 a 40 cm de solo. Eixo horizontal – posição das linhagens na planilha de entrada de dados com valores das características. Eixo horizontal – posição das linhagens na planilha de entrada de dados com valores das características.....180

Figura 45 - Gráficos de dispersão de resíduos de cinco características radiculares sob tratamento de estresse por seca na profundidade de 20 a 40 cm de solo. Eixo horizontal – posição das linhagens na planilha de entrada de dados com valores das características. Eixo horizontal – posição das linhagens na planilha de entrada de dados com valores das características.....181

Figura 46 - Gráficos de dispersão de resíduos de cinco características radiculares sob tratamento sem estresse por seca (controle) na profundidade de 40 a 60 cm de solo. Eixo horizontal – posição das linhagens na planilha de entrada de dados com valores das características. Eixo horizontal – posição das linhagens na planilha de entrada de dados com valores das características.....182

Figura 47 - Gráficos de dispersão de resíduos de cinco características radiculares sob tratamento de estresse por seca na profundidade de 20 a 40 cm de solo. Eixo horizontal – posição das linhagens na planilha de entrada de dados com valores das características. F = valor F statistic/ P = probabilidade (5%).....183

Figura 48 - Distribuição das características fenotípicas de linhagens puras recombinantes (RIL-F7) na condição controle (sem estresse) na profundidade de solo de 20 a 40 cm. Parental Chorinho= P1; Parental Puteca= P2.....189

Figura 49 - Distribuição das características fenotípicas de linhagens puras recombinantes (RIL-F7) na condição de estresse hídrico na profundidade de solo de 20 a 40 cm. Parental Chorinho= P1; Parental Puteca= P2.....190

Figura 50 - Distribuição das características fenotípicas de linhagens puras recombinantes (RIL-F7) na condição controle na profundidade de solo de 40 a 60 cm. Parental Chorinho= P1; Parental Puteca= P2.....	192
Figura 51 - Distribuição das características fenotípicas de linhagens puras recombinantes (RIL-F7) na condição de estresse hídrico na profundidade de solo de 40 a 60 cm. Parental Chorinho= P1; Parental Puteca= P2.....	193
Figura 52 - QTL associado a Comprimento de raiz na população RIL Chorinho x Puteca submetida a estresse por seca no cromossomo 1.1 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto (profundidade do solo: 20-40 cm). Valor de crítico de LOD de 2,5, representado pela linha horizontal em vermelho.....	198
Figura 53 - QTL associado a Comprimento de raiz na população RIL Chorinho x Puteca submetida a estresse por seca no cromossomo 2 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto (profundidade do solo: 20-40 cm). Valor de crítico de LOD de 2,5, representado pela linha horizontal em vermelho.....	198
Figura 54 - QTL associado a Área Projetada de raiz na população RIL Chorinho x Puteca submetida a estresse por seca no cromossomo 1.1 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto (profundidade do solo: 20-40 cm). Valor de crítico de LOD de 2,5, representado pela linha horizontal em vermelho.....	200
Figura 55 - QTL associado a Área Superficial de raiz na população RIL Chorinho x Puteca submetida a estresse por seca no cromossomo 1.1 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto (profundidade do solo: 20-40 cm). Valor de crítico de LOD de 2,5, representado pela linha horizontal em vermelho.....	202
Figura 56 - QTL associado a Volume de raiz na população RIL Chorinho x Puteca submetida a estresse por seca no cromossomo 2 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto (profundidade do solo: 20-40 cm). Valor de crítico de LOD de 2,5, representado pela linha horizontal em vermelho.....	204
Figura 57 - QTL associado a Comprimento de raiz na população RIL Chorinho x Puteca submetida a estresse por seca no cromossomo 5 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto (profundidade do solo: 40-60 cm). Valor de crítico de LOD de 2,5, representado pela linha horizontal em vermelho.....	206
Figura 58 - QTL associado a Área Projetada de raiz na população RIL Chorinho x Puteca submetida a estresse por seca no cromossomo 5 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto (profundidade do solo: 40-60 cm). Valor de crítico de LOD de 2,5, representado pela linha horizontal em vermelho.....	207
Figura 59 - QTL associado a Diâmetro Médio de raiz na população RIL Chorinho x Puteca submetida a estresse por seca no cromossomo 3 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto (profundidade do solo: 40-60 cm). Valor de crítico de LOD de 2,5, representado pela linha horizontal em vermelho.....	209
Figura 60 - Mapa genético de <i>Oryza sativa</i> baseado na população RIL Chorinho x Puteca (Pessoa Filho, 2008), com a descrição dos QTLs identificados no presente estudo (qDT – QTL Drought Tolerance) representados pelas barras verticais.....	211

**Desenvolvimento de Painéis Multiplex de Marcadores Microsatélites e
Mapeamento de QTLs de tolerância à seca e ao frio em Linhagens Puras
Recombinantes de arroz (*Oryza sativa* L.)**

RESUMO

A análise de polimorfismo de sequência de DNA em regiões hipervariáveis do genoma foi utilizada na caracterização de acessos conservados em Banco de Germoplasma e no mapeamento de regiões genômicas que controlam tolerância à seca e ao frio em arroz. Inicialmente foram selecionados 441 marcadores microsatélites distribuídos no genoma de arroz (*Oryza sativa* L.) para análise em painéis de amplificação alélica simultânea (painéis multiplex). A estimativa de parâmetros genéticos de cada marcador microsatélite possibilitou a seleção de 41 marcadores para o desenvolvimento dos painéis. A análise de PCR simultâneo de grupos de marcadores amostrados entre os 41 selecionados possibilitou o desenvolvimento de oito novos painéis multiplex de microsatélites, que permitem a amplificação simultânea de alelos em diferentes locos em uma única reação de polimerase em cadeia. Os painéis desenvolvidos foram utilizados para estimar relações de vínculo genético entre acessos do Banco de Germoplasma de Arroz. Testes de identidade genética para a detecção de acessos duplicados na Coleção de Base de Arroz indicam um nível de duplicação acima de 64% em acessos com a mesma denominação na coleção. Os painéis mostraram-se eficientes para uso em estudos genéticos diversos, como em programas de conversão linhagens. Uma análise do percentual de conversão para o genoma do parental recorrente em programa de retrocruzamento para resistência a herbicida possibilitou a identificação de linhagens com conversão genotípica variando de 91,86 a 97,67% em RC3 com o emprego dos painéis. As estimativas de diversidade genética entre os acessos foram ainda utilizadas para selecionar cultivares de arroz para uso em estudos de mapeamento de regiões do genoma associadas ao controle de tolerância à seca e ao frio. As cultivares Chorinho e Amaroo (subespécie *japonica*) foram cruzadas para a obtenção de linhagens puras recombinantes (RILs – *Recombinant Inbred Lines*) para mapeamento genético de QTLs de tolerância ao frio. Um mapa genético foi construído para a população RIL Chorinho x Amaroo, cobrindo 1.278 cM. Os ensaios fenotípicos

para tolerância ao frio foram desenvolvidos em campo e em condições controladas. Na análise de dados coletados no campo foram detectadas oito QTLs de tolerância ao frio nas avaliações de parâmetros de produtividade e quatro QTLs nas análises de viabilidade de pólen, localizados nos cromossomos 1, 2, 3, 5, 8, 9, 10 e 11. Em condições controladas foi possível detectar quatro QTLs associados ao controle de tolerância ao frio durante a germinação, localizados nos cromossomos 3 e 7. Um dos QTLs identificados em condições controladas corresponde ao intervalo no cromossomo 3 em que foi detectada uma região genômica associada às características Viabilidade de Pólen e Peso Parcial de Panículas, avaliadas em condições de campo. As cultivares Chorinho e Puteca (subespécie *japonica* tropical) foram cruzadas para a obtenção de linhagens puras recombinantes para mapeamento genético de QTLs de tolerância à seca. Um mapa genético baseado nos marcadores microssatélites foi construído para a população RIL Chorinho x Puteca, cobrindo 897,5 cM. Os ensaios fenotípicos para tolerância à seca foram desenvolvidos em campo em local de estiagem prolongada com o uso de irrigação controlada e estresse hídrico durante o desenvolvimento das plantas. Para este estudo foram avaliados parâmetros de desenvolvimento radicular em duas profundidades de solo. Baseado nos dados genotípicos e fenotípicos foi possível detectar cinco QTLs associados ao controle de tolerância à seca, distribuídos nos cromossomos 1, 2, 3 e 5. Vários QTLs de tolerância à seca e ao frio detectados neste trabalho encontram-se na mesma região genômica de QTLs detectados em outros experimentos, desenvolvidos em diferentes locais com a utilização de diferentes populações de arroz. A complementação dessas informações deve auxiliar a validação de QTLs associados ao controle destas características. Os dados obtidos possibilitam o emprego de painéis multiplex de microssatélites na caracterização e uso de acessos do Banco de Germoplasma, bem como o desenvolvimento e teste de estratégia de seleção assistida por marcadores para tolerância à seca e ao frio em arroz.

Palavras chave: *Oryza sativa*, tolerância à seca, tolerância ao frio, mapeamento de QTL, marcadores microssatélites, Banco de Germoplasma.

ABSTRACT

DNA polymorphism analysis of hypervariable genomic regions was used to characterize germplasm bank accessions and to map genomic regions which control drought and cold tolerance in rice. Initially, 441 microsatellites markers distributed throughout the rice genome (*Oryza sativa L.*) were selected to test their potential use in simultaneous allelic amplification panels. The estimates of genetic parameters for each microsatellite marker enabled the selection of 41 markers potentially useful for further analysis. Eight new panels of microsatellite markers allowing amplification of different alleles in different loci based on only one PCR (Polymerase Chain Reaction) per panel have been developed. The new panels were tested to estimate the genetic distances between accessions of a Rice Germplasm Bank. Genetic identity tests were performed to detect duplicate accessions on a Base Collection of Rice using these panels. The results indicated that for accessions with the same denomination in the collection the level of genetic duplication is higher than 64%. The panels seemed also efficient for use in other genetics studies, such as line conversion. A study of the proportion of genome conversion in a backcross program for herbicide resistance based on multiplex panels enabled the identification of lines with genotypic conversion from 91,8 to 97,67% in RC3. Estimates of genetic distance among accessions based on the panels were used to select rice accessions to be crossed and develop segregating populations for drought and cold tolerance mapping studies. The cultivars Chorinho and Amaroo (*japonica* rice) were crossed for obtain a Recombinant Inbred Line (RIL) population for QTL genetic mapping of cold tolerance. A genetic map was constructed based on this RIL population. The phenotypic evaluation of cold tolerance was conducted in the field and under growth chamber/greenhouse controlled conditions. Analysis of data collected in the field allowed the detection of eight cold tolerance QTLs based on yield component parameters and four QTLs based on the analysis of pollen viability. Under temperature controlled conditions it was possible to detect four QTLs associated with cold tolerance during the seed germination stage. One of the QTLs identified by experiments evaluated under controlled conditions was detected in the same genomic region associated with pollen viability under field conditions. The cultivars Chorinho and Puteca (*tropical japonica*) were crossed to generate a recombinant inbred line population to be used in QTL genetic mapping of drought tolerance. A genetic map based on microsatellite

markers was constructed for this population. Drought tolerance phenotypic evaluation was performed in the field in a drought prone region using irrigation and water stress controlled conditions during plant development. For this study, several root developmental parameters were evaluated based on measurements made at two soil depths. The genotypic and phenotypic data allowed the detection of five QTLs associated with drought tolerance control, distributed on chromosomes 1, 2, 3 and 5. Some QTLs detected for drought and cold tolerance in this work are located on the same genomic region of QTLs detected by other independent experiments, which were based on evaluations developed in different locations and different rice populations. Further investigation will help the validation of these QTLs associated with drought tolerance. The data gathered enable the use of microsatellite multiplex panels in the characterization and use of Germplasm Bank accessions, as well as in the development and test of marker aided selection of drought and cold tolerance in rice.

Key words: *Oryza sativa*, drought tolerance, cold tolerance, QTL mapping, microsatellites markers, Germplasm Bank.

**Desenvolvimento de Painéis Multiplex de Marcadores Microsatélites e
Mapeamento de QTLs de tolerância à seca e ao frio em Linhagens Puras
Recombinantes de arroz (*Oryza sativa* L.)**

INTRODUÇÃO

A cultura do arroz (*Oryza sativa* L.) tem grande importância na alimentação da população humana. No Brasil, é um dos produtos que compõem a cesta básica e uma das principais fontes de caloria do brasileiro. Para uma crescente população, é necessário que a produtividade da cultura seja aumentada, ou que barreiras sejam ultrapassadas para a redução de perdas na produção, ou ainda que a cultura tenha um melhor desempenho sob condições adversas. No cultivo do arroz ocorre redução de produtividade por estresses abióticos como seca e frio, em consequência de variações climáticas nas principais regiões produtoras do Brasil, como o Sul e o Centro Oeste.

Quebras de safras causadas por frentes frias no Sul do Brasil podem chegar ao índice de 50%. Isto é relevante já que o Rio Grande do Sul e Santa Catarina, situados em região de clima subtropical e temperado, respondem por grande parte da produção de arroz no País.

Noutra vertente, a tolerância à seca é, atualmente, o estresse abiótico de maior relevância no cenário mundial, pois há claras evidências de diminuição da disponibilidade de água para a agricultura no planeta e conseqüente aumento no custo de produção. O uso eficiente da água é um dos grandes desafios do século 21 (FAO, 2000). A agricultura utiliza a maior parte da água consumida pelo homem e, particularmente o arroz, especialmente no cultivo irrigado, apresenta grande demanda de água por quilograma de grão produzido. Por isso, nos programas de melhoramento é imprescindível o desenvolvimento de plantas com maior eficiência no uso da água. Cerca de 65% da área plantada de arroz no Brasil é feita sob cultivo de sequeiro. Neste modo de produção, a produtividade média da cultura é baixa, embora haja grande potencial para aumento de produtividade de arroz de sequeiro via melhoramento

genético. A seleção de genótipos mais eficientes no uso da água é parte importante da tarefa de desenvolver cultivares de sequeiro mais produtivas.

Acessos de arroz conservados no Banco de Germoplasma são importantes fontes de genes de tolerância à seca e ao frio para emprego no desenvolvimento de novas cultivares tolerantes a estresse abióticos. O emprego de metodologias de análise genômica que auxiliem seleção e uso de germoplasma pelos programas de melhoramento é estratégico para a obtenção de cultivares tolerantes, e tema central dos experimentos desenvolvidos neste trabalho.

O arroz

O arroz (*Oryza sativa* L.) pertence ao gênero *Oryza*, tribo Oryzae e à família Poaceae (Gramineae), com vinte e três espécies descritas. O complexo *Oryza sativa* compreende duas espécies cultivadas (*O. glaberrima* e *O. sativa*) e cinco espécies silvestres (*O. rufipogon*, *O. barthii*, *O. longistaminata*, *O. meridionalis* e *O. glumaepatula*, que é nativa do Brasil) (BUSO *et al.*, 1998). As espécies do gênero *Oryza* possuem $n = 12$ cromossomos, e há alguma flexibilidade em cruzamentos inter-específicos. A classificação do *Oryza sativa* consiste de duas subespécies, *indica* e *japonica* (KATO *et al.*, 1928). Em 1952, foi identificado um terceiro grupo, o *javanica*, que atualmente é incluído no subgrupo *japonica* como *japonica tropical* (MATSUO, 1952; GARRIS *et al.*, 2005).

Existem três hipóteses relativas à diferenciação dos grupos gênicos *indica-japonica*, mas a mais aceitável é a de que ancestrais silvestres domesticados em ambiente distintos diferenciaram-se em resposta às condições de habitat (MORISHIMA, 2001). A diferenciação gerou características distintas entre os grupos gênicos: a subespécie *indica* caracteriza-se por acessos com grãos mais longos e estreitos, ausência de arista, fácil debulha, colmos longos, grande número de perfilhos (mais abertos), folhas longas e decumbentes, ciclo tardio e sensibilidade a baixas temperaturas (CHANG & BARDENAS, 1965; WATANABE, 1997). O arroz que pertence ao grupo *indica* é o mais adaptado ao sistema irrigado e o mais cultivado nas regiões subtropicais como o Sri Lanka, as Regiões Sudoeste e Central da China, a Índia,

Java, Paquistão, Filipinas, Taiwan e em regiões tropicais, de um modo geral. Os acessos da subespécie *japonica* apresentam grãos mais curtos e oblongos, presença de arista, colmos curtos e rígidos, capacidade mediana de perfilhamento (mais eretos), folhas estreitas de cor verde-escura, ciclo curto, maior tolerância ao frio e adaptação ao sistema de cultivo de sequeiro. As variedades tradicionais de arroz de sequeiro ou de terras altas do Brasil geralmente pertencem a esse grupo. Vale frisar, no entanto, que os programas de melhoramento genético têm usufruído de cruzamentos *indica x japonica* e capitalizado na recombinação destas características para fins específicos. Portanto, embora tradicionalmente os acessos *indica e japonica* sejam descritos com base nestas características, há um grande número de linhagens derivadas de cruzamentos intra-específicos que combinam estas características, sendo temerário o seu uso para classificar um acesso em determinado grupo. A análise de polimorfismo molecular é o melhor e mais acessível procedimento atual de classificação do *background* genético de acessos de arroz nas subespécies *indica e japonica*.

Aspectos econômicos do arroz

Atualmente, a energia alimentar mundial provém de apenas 30 espécies, dentre elas algumas gramíneas, onde o arroz ocupa posição de destaque. Sua produção é integralmente destinada ao consumo diário de mais da metade da população mundial (FAO, 2007). No mundo, são plantados aproximadamente 156 milhões de hectares de arroz, com uma produção de 650 milhões de toneladas de grãos. A China é o maior produtor de arroz no mundo, o Brasil classifica-se em nono lugar em produção e em primeiro entre os países não-asiáticos, com a utilização tanto de sistema de cultivo irrigado (Rio Grande do Sul e Santa Catarina, principalmente) e sistema de cultivo de sequeiro (Centro Oeste, Nordeste e Norte). A área cultivada de arroz atinge aproximadamente 2,9 milhões de hectares e produção anual de ~12 milhões de toneladas, representando 11% da produção agrícola brasileira e 12% das calorias consumidas pela população. O Estado do Rio Grande do Sul é o maior produtor de arroz do País contribuindo com cerca de 50% da produção nacional, mas em Santa Catarina têm-se a maior produtividade, com aproximadamente 7,3 t/ha contrastados com a média mundial de aproximadamente 4 t/ha. Os dois Estados somam ~65% do arroz produzido no Brasil, utilizando apenas 35 a 40% da área cultivada. O arroz de sequeiro responde

por cerca de ~35% da produção de arroz no Brasil, com área plantada maior do que a de arroz irrigado, mas com produtividade média abaixo de 2.000kg/ha (FAO, 2007). No entanto, alguns Estados têm alcançado picos de produtividade de até 6 ton/ha e apresentam características que atendem às exigências dos mais diversos mercados consumidores (PEREIRA, 2002).

No Brasil, os programas de melhoramento genético da cultura do arroz foram iniciados em 1937, no Instituto Agronômico de Campinas–IAC (SP), e, em 1938, no Instituto Riograndense do Arroz – IRGA (RS). O primeiro priorizou as pesquisas para o arroz de sequeiro, enquanto o segundo dedicou-se ao arroz irrigado (CASTRO *et al.*, 1999). Instituições de pesquisa estaduais ou federais coordenam e mantêm bancos de germoplasma constituídos de milhares de acessos silvestres, tradicionais e cultivados, que são conservados e avaliados para a utilização presente e futura. A avaliação dos acessos de um banco de germoplasma, em menor ou maior escala, é fundamental para oferecer ao pesquisador informações sobre as características de interesse genético, botânico e agrônomo desses acessos (FERREIRA *et. al.*, 1998).

As novas cultivares de alta qualidade de grãos desenvolvidos para as condições de terras altas do País são híbridos de *indica* e *japonica* (PINHEIRO, 1998). Mesmo com a obtenção de produtividade crescente nos últimos anos, o Brasil necessita importar arroz para suprir o mercado interno. Numa perspectiva futura, com o crescimento da população mundial, haverá necessidade de aumento significativo da produtividade para que a área cultivada atualmente não seja alterada. O emprego de novas ferramentas tecnológicas e de acessos de Bancos de Germoplasma é necessário para enfrentar o desafio da demanda mundial por alimento em direção à adaptação aos estresses bióticos e abióticos.

Genoma do arroz

O arroz é considerado a espécie modelo para estudos em monocotiledôneas, em paralelo com arábido para dicotiledôneas, por ser uma espécie diplóide com o genoma relativamente pequeno (430 Mpb), e grande importância global na alimentação (XU, 2005). O genoma de arroz é o menor entre as gramíneas de grande importância econômica, como o sorgo, milho, aveia, cevada e trigo (ARUMUNAGATHAN & EARLE, 1991), tornando-se referência para mapeamento comparativo em gramíneas pela elevada sintenia genômica com outras monocotiledôneas (MOORE *et al.*, 1995). O arroz foi a primeira espécie vegetal de importância agrícola a ter o genoma inteiramente seqüenciado (GOFF *et al.*, 2002; YU *et al.*, 2002), com um número estimado 46 a 56 mil genes para a subespécie *indica*, e de 32 a 50 mil genes para a subespécie *japonica*. O genoma do arroz apresenta blocos ordenados de genes conservados em relação às outras gramíneas (MOORE *et al.*, 1995), o que significa que a informação sobre o controle genético de uma característica de arroz pode ser relevante para o controle genético de uma característica similar em alguma outra gramínea. É esperado que a genômica funcional de plantas modelo, como o arroz, possa contribuir para o entendimento da base biológica, bem como da exploração da informação genômica para o desenvolvimento das culturas (XU, 2005). As informações geradas no genoma do arroz podem ser acessadas em bancos de dados conservados e disponibilizados por diferentes países, garantindo avanços significativos na pesquisa genética da espécie.

Tolerância ao frio

O frio é uma condição ambiental que pode causar danos em diferentes fases do desenvolvimento das plantas. A tolerância ou a suscetibilidade ao estresse causado por baixas temperaturas varia com a espécie, o genótipo e estágio de desenvolvimento da planta. A intensidade do frio é afetada por vários fatores como umidade, velocidade do vento, luminosidade, etc. (BRAY, 2000). Durante o desenvolvimento da planta, os estágios de germinação, plântula e fase reprodutiva, têm sido os mais estudados por demonstrarem maior sensibilidade ao efeito da baixa temperatura. Para o melhoramento de cultivares tolerantes ao frio, os experimentos devem ser conduzidos, portanto, em diferentes fases de desenvolvimento da planta. Baixas temperaturas durante a

germinação da semente, por exemplo, podem levar a uma diminuição da densidade das plantas na lavoura, resultando em um menor aproveitamento da área cultivada, o que favorece o crescimento de ervas daninhas, contribuindo para um maior custo de produção e para a redução da produtividade.

A microesporogênese e o florescimento são as fases mais sensíveis ao estresse por frio em estágio reprodutivo. O frio durante a microesporogênese provoca a esterilidade de espiguetas, dificultando o desenvolvimento normal do grão de pólen em formação, especialmente no período de uma a duas semanas antes do florescimento (YOSHIDA, 1981). Na antese, o frio pode causar deiscência das anteras e afetar o desenvolvimento do tubo polínico, o que pode causar uma baixa ocorrência de fecundação das espiguetas (SOUZA, 1990).

O estresse no estágio reprodutivo leva a exerceção da panícula, esterilidade de pólen e manchas na espiguetas (SOUZA, 1990). A fertilidade da espiguetas de arroz decresce quando as plantas são expostas a baixas temperaturas no estágio de emborrachamento, em decorrência de deficiência no desenvolvimento do micrósporo em condição de baixa temperatura (SAITO *et al.*, 2003). No período de florescimento e preenchimento dos grãos, o refreamento da polinização e granação das panículas pela diminuição de temperatura também diminui a produtividade. Alguns estudos demonstram que neste período do desenvolvimento da planta, a capacidade de recuperação da produtividade é menor que em outros estágios de desenvolvimento (KIM *et al.*, 2000; SAITO *et al.*, 2001; ANDAYA and MACKILL, 2003).

A seleção para tolerância a frio é complexa e dificultosa. O período de incidência, a duração e a intensidade do frio em condições de campo são fatores de difícil controle na condução dos experimentos. A ocorrência de baixas temperaturas durante um determinado estágio de desenvolvimento do genótipo que seja sensível ao estresse por frio também é de difícil controle (SOUZA, 1990). Por isso é importante complementar os estudos de campo com ensaios desenvolvidos em condições controladas (câmara fria, casa de vegetação) que simulem de forma apropriada as condições de campo. Entre as condições controladas mais comuns destacam-se o emprego de baixa temperatura em câmaras frias ou a utilização de água resfriada em

estádios críticos de desenvolvimento da planta em casa de vegetação (NAIDU *et al.*; FARRELL *et al.*; GUNAWARDENA & FUKAI; CRUZ *et al.*, 2006).

Esterilidade do pólen

O arroz é cultivado em regiões tropicais e subtropicais, mas tanto a temperatura alta como a baixa temperatura durante o florescimento podem ocasionar esterilidade de pólen e, conseqüentemente, reduzir a produção de grãos. A baixa temperatura no estágio de emborrachamento pode reduzir a produção em até 40% (ANGUS & LEWIN, 1991), causando um efeito pós-meiótico negativo no desenvolvimento celular, no estágio de tétrades ou de micrósporos jovens (SATAKE & HAYASE, 1970). As células do tapetum que envolvem as anteras e que são responsáveis pela transferência dos nutrientes para os grãos de pólen sofrem hipertrofia e morrem, impedindo o desenvolvimento normal do grão de pólen. O grão de pólen sob estresse de frio acumula pouco ou nenhum amido, torna-se estéril (NISHIYAMA, 1984) pela falta de açúcar necessário à sua germinação, limitando a polinização e a produção de grãos (FARRELL *et al.*, 2006). A presença de células binucleadas no tapetum de antera de arroz sugere um elevado grau de complexidade na citologia desse tecido, o que pode ter relevância no desenvolvimento da antera (RAGHAVAN, 1988).

As perdas causadas por frio em cultivares de arroz podem chegar ao índice de 50%, dependendo do estágio de desenvolvimento em que a planta é exposta ao estresse. Portanto, é desejável a utilização de genótipos tolerantes à esse estresse que permitam a redução de perdas, já que o período de ocorrência de baixas temperaturas é de difícil previsão, assim como a intensidade. O controle genético de tolerância ao frio tem ampla variabilidade entre as espécies vegetais. Algumas plantas não são afetadas e conseguem apresentar crescimento mesmo em temperaturas próximas de 4 °C. Outras sofrem danos severos quando submetidas a temperaturas abaixo de 15 °C. Em arroz, observa-se grande variabilidade genética para tolerância a baixas temperaturas. Algumas variedades sofrem graves danos, inclusive com quebra de safra, quando submetidas a temperaturas entre 15 e 20 °C por algumas horas em certos estádios de desenvolvimento. Estudos demonstram que a tolerância ao frio é, regra geral, maior no grupo *japonica* em relação ao *indica* (LI *et al.*, 1981, SHAHI & KRUSH, 1986).

Os mecanismos de resistência ao estresse podem ser divididos em dois grupos: os mecanismos de escape, que previnem a exposição da planta ao estresse e os mecanismos de tolerância, que permite a adaptação da planta à condição de estresse (BRAY, 2000). Um mecanismo fisiológico que contribui para tolerância ao frio é a conservação da atividade e funcionamento da membrana celular, que interfere na atividade do cloroplasto, no funcionamento celular e relações hídricas, com impacto no crescimento e desenvolvimento da planta (BLUM, 1988). A membrana é geralmente o primeiro componente celular que sofre a injúria causada pelo frio através da alteração da composição de lipídios causada por desidratação (SCHMITT, 1994; UEMURA *et al.*, 2006). A caracterização da composição dos lipídios da membrana pode, portanto, contribuir para a compreensão da tolerância ao frio (UKAMURA *et al.*, 2006).

O frio pode danificar a folha causando redução na área foliar, o que retarda o crescimento da planta (BLUM, 1988). Pode causar também a desnaturação de proteínas e contribuir para o estresse oxidativo na planta. Algumas plantas tolerantes a baixas temperaturas promovem a formação de gelo nos espaços intercelulares evitando a formação de cristais de gelo no citoplasma, ou ativam o acúmulo de proteínas e açúcares, que podem atenuar a formação de gelo, retardando a desidratação celular (BRAY *et al.*, 2000).

Vários acessos que possuem moderado a elevado grau de tolerância a baixas temperaturas foram identificados no grupo *japonica* (KIM *et al.*, 2000). O conhecimento genético do controle de tolerância ao frio, no entanto, é ainda incipiente e ensaios adequados para a avaliação de fenótipos associados à tolerância ou susceptibilidade a baixas temperaturas são ainda passíveis de aprimoramento.

Tolerância à seca

A planta pode utilizar mecanismos fisiológicos, bioquímicos e/ou anatômicos para minimizar o efeito do estresse hídrico ou para recuperar-se rapidamente deste mesmo efeito (CHAMPOUX *et al.*, 1995; LILLEY *et al.*, 1996; PRICE *et al.*, 1997a; PRICE *et al.*, 1997b; ZHENG *et al.*, 2000; PRICE *et al.*, 2002; BENNETT, 2003). Mas

é óbvio que um limite máximo de estresse hídrico deve ser experimentalmente estabelecido para que haja potencial de produção economicamente viável da cultura. Isto significa que a submissão da cultura a estresse acima deste limite ultrapassa as suas condições biológicas de produzir suficientemente para tornar-se econômica. Em outras palavras, não existe algo como resistência total à seca, pois a água é essencial para a planta sobreviver. O termo “tolerância” é, portanto, mais apropriado para essa maior eficiência no uso da água. A seleção de variedades adaptadas a sistema não irrigado de produção confunde-se, pela natureza do modo de produção, com a seleção de acesso adaptados à condição de estresse hídrico (tolerantes à seca). Este é o caso típico de melhoramento genético de arroz de terras altas, também conhecido no Brasil como arroz de sequeiro ou arroz aeróbico.

A tolerância à seca, portanto, pode ser definida como a capacidade de uma variedade ter uma alta produtividade em relação a outras variedades da mesma espécie em condição de estresse hídrico (LEVITT, 1972). A planta pode ser tolerante à seca, por exemplo, por ter capacidade de: (a) reduzir a perda de água para o ar e para o solo; (b) manter o turgor por um período extenso de estresse hídrico; (c) sobreviver à perda de turgor; (d) proteger as células contra o dano oxidativo causado pela contínua absorção de radiação em condições em que a abertura estomatal não permite a fotossíntese; (e) prevenir a esterilidade do pólen e o aborto do embrião durante o florescimento; (f) alocar grande parte do carbono fixado nos grãos (índice de colheita elevado).

Os mecanismos de tolerância à seca podem ser divididos em duas grandes classes: a) mecanismos em que a planta tenta evitar a desidratação através da manutenção do status hídrico da célula; b) mecanismos em que a planta tenta tolerar a desidratação. Existem ainda os mecanismos de escape do estresse hídrico que não se enquadram, portanto, entre os mecanismos de tolerância. No caso de escape, o período de estresse hídrico de uma determinada região é contornado com o emprego de variedades de ciclo curto – a planta escapa de estresse completando o seu ciclo antes do período crítico de seca. Noutras situações, a planta tem seu ciclo aumentado para evitar a coincidência entre o período de florescimento e o período de seca.

As principais características que podem estar relacionadas com os mecanismos de tolerância à seca têm sido estudadas para vários parâmetros, com o objetivo de identificar regiões genômicas relacionadas com o seu controle. Algumas das características estudadas são: estabilidade da membrana celular (TRIPATHY *et al.*, 2000), ajuste osmótico (ALI *et al.*, 1999), tolerância á desidratação (CHAVES *et al.*, 2002), condutância estomatal e enrolamento de folhas, morfologia da raiz.

O estágio reprodutivo da planta é a fase crucial para a análise de tolerância à seca. Estresse nessa fase do desenvolvimento da planta provoca redução severa na produção de grãos (FUKAI *et al.*, 2000). No entanto, uma planta tolerante à seca em um determinado estágio de desenvolvimento, poderá não apresentar tolerância em outra fase sensível do crescimento (BLUM, 2005). O controle das condições para o desenvolvimento dos ensaios de tolerância à seca é um dos grandes desafios para a seleção de acessos superiores para esta característica.

Marcadores moleculares

As técnicas de marcadores moleculares revelam polimorfismo de sequência de DNA. O polimorfismo pode ser detectado em sequências gênicas (exons) ou em regiões não-codantes (introns). O emprego de marcadores moleculares abrange uma vasta área da genética. O polimorfismo de DNA revelado em um loco de marcador molecular tem herança Mendeliana (FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1996).

Marcadores moleculares com herança co-dominante são geralmente os mais apropriados para a análise genética por terem capacidade de diferenciar indivíduos homocigotos e heterocigotos. Entre as diversas classes de marcadores moleculares destacam-se os marcadores microssatélites, amplamente utilizados na caracterização de recursos genéticos e no melhoramento genético de plantas e animais. Microssatélites são marcadores moleculares que revelam polimorfismo em regiões hipervariáveis do DNA caracterizadas por sequências simples repetitivas em tandem de 2 a 6 pares de bases, com diferentes números de repetições, também conhecidas como “*short tandem repeats* – STR”. Estas regiões são distribuídas por todo o genoma eucarioto e podem ser analisadas por meio dos produtos da reação de polimerase em cadeia (PCR). A técnica emprega iniciadores (*primers*) complementares a regiões adjacentes à região repetitiva.

A diferença de tamanho entre os fragmentos de DNA amplificados pode ser detectada por eletroforese em géis de poliacrilamida ou sistema de capilares com detecção semi-automatizada, via laser de espectro de fluorescências em sequenciador automático de DNA. Estas regiões são altamente polimórficas e co-dominantes e têm sido utilizadas com sucesso para a geração de estimativas robustas de individualidade genética para várias espécies.

As regiões com microssatélites apresentam uma taxa de mutação mais elevada do que outras regiões do genoma. Por isso o seu elevado grau de multialelismo e a elevada geração de alelos exclusivos ou com baixa frequência em uma determinada população. A frequência das diferentes classes de microssatélites (di, tri e tetranucleotídeos) reduz à medida que aumenta o tamanho da unidade repetitiva, ou seja, em geral quanto maior o número de nucleotídeos da unidade repetitiva do microssatélite, menor é a sua frequência no genoma (McCOUCH, 1997). Além de menor quantidade no genoma, os microssatélites formados por tetranucleotídeos apresentam menor polimorfismo. Sequências de DNA das regiões não traduzidas ou de íntrons, normalmente contém mais repetições de di e tetranucleotídeos que regiões traduzidas, onde os trinucleotídeos encontram-se em maior quantidade (KOTA *et al.*, 2001; CARDLE *et al.*, 2000; YU *et al.*, 1999; SMULDER *et al.*, 1997). Em arroz, a maioria das seqüências repetitivas são de trinucleotídeos (AKAGI *et al.*, 1996). Os marcadores microssatélites têm sido usados eficientemente em estudos de diversidade genética, na construção de mapas genéticos e no mapeamento de genes de interesse econômico, sejam eles associados a características qualitativas ou quantitativas (FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1996).

Mapeamento genético

A base para a construção de mapas genéticos foi fundamentada em experimentos sobre ligação gênica realizados por MORGAN (1910) e STUTERVANT (1913), que sugeriram como medida da distância entre dois genes a frequência de recombinação (COELHO & SILVA, 2002). Atualmente, a disponibilidade de um grande número de marcadores microssatélites distribuídos no genoma de arroz viabiliza a rápida e

eficiente construção de mapas genéticos, através do emprego de equipamentos de alta performance, como seqüenciadores de DNA.

A construção de um mapa genético baseia-se na verificação de desequilíbrio de ligação entre dois locos. O desequilíbrio de ligação é uma medida de associação entre alelos de dois locos diferentes. Se dois alelos são encontrados juntos em uma população mais frequentemente do que seria esperado para os locos de segregação independente, os alelos estão em desequilíbrio de ligação. A construção de mapas genéticos é hoje geralmente baseada no polimorfismo de seqüência de DNA entre dois genitores com fenótipo contrastante para a característica que se deseja mapear. Por isso a importância da escolha dos genitores para a obtenção de uma população segregante para a característica de interesse, de forma a maximizar o desequilíbrio de ligação entre um loco e a região genômica associada à característica de interesse. Mapas genéticos construídos a partir de marcadores moleculares permitem identificar, medir e mapear a magnitude do efeito dos principais genes envolvidos no controle de características monogênicas ou quantitativas (FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1998). Estes têm sido utilizados com grande sucesso na identificação de genes associados ao controle de características de interesse econômico em plantas.

Mapeamento de QTL (Quantitative Trait Loci)

As características de interesse econômico em plantas têm quase sempre um controle genético complexo, geralmente determinado por vários genes distribuídos por todo o genoma e com forte interação com o ambiente. Estas características são chamadas de características quantitativas e os locos gênicos (ou regiões genômicas) associados com o seu controle são conhecidos como QTL (*Quantitative Trait Loci*), ou locos de característica quantitativa (TANKSLEY *et al.*, 1989). Geralmente são identificados por estratégias de mapeamento genético utilizando marcadores moleculares, que detectam diferença significativa entre o fenótipo em questão e a classe genotípica do marcador, sugerindo que a característica está ligada ao marcador (TANKSLEY, 1993). Muitos QTLs têm sido identificados e podem ser enquadrados em dois grupos de genes, os de maior efeito no fenótipo, que explicam um alto percentual da variação fenotípica, e os que controlam características de menor efeito no fenótipo, e

que representam a maioria dos QTLs encontrados. Informações de mapa têm sido usadas para desenvolver sistemas de seleção indireta para fenótipos de grande dificuldade de análise (FERREIRA, 2003), possibilitando a seleção assistida por marcadores através de marcadores fortemente ligados à característica de interesse.

A eficiência da identificação e isolamento de genes de características quantitativas via mapeamento genético depende, entre outros fatores, da herdabilidade da característica, da disponibilidade de marcadores moleculares distribuídos ao longo do genoma, da análise de um grande número de indivíduos em diferentes gerações de populações segregantes e de ensaios experimentais que possibilitem a mensuração do fenótipo de interesse. Limitações nestes fatores afetam diretamente a potencial detecção de QTLs de pequenos efeitos (YOUNG, 1999; STUBER *et al.*, 1999; RISCH, 2000).

Vários testes estatísticos são utilizados no mapeamento para detecção de QTLs. A análise de associação entre marcadores pode ser feita de forma individualizada, ou seja, de um marcador por vez (regressão linear) que não requer o conhecimento prévio da posição do marcador no genoma. Porém, quando a distância entre os marcadores e o QTL é grande, há dificuldade em sua detecção (HALEY & KNOTT, 1992; TANKSLEY, 1991). A análise simultânea de vários marcadores conjuntamente é conhecida como mapeamento de intervalo simples e de intervalo composto. O mapeamento de intervalo simples testa a possível presença de QTL em várias posições de um intervalo entre dois marcadores moleculares (LANDER & BOLSTEIN, 1989) por regressão linear ou estimativa de verossimilhança. O mapeamento de intervalo composto testa a associação entre marcadores com a característica de interesse em cada intervalo, porém o modelo leva em consideração as variâncias de outros QTLs pela inclusão dos coeficientes de regressão parcial de outros marcadores no modelo (ZENG, 1994). O mapeamento de intervalo múltiplo (KAO *et al.*, 1999) é uma alternativa para mapeamento de vários QTLs conjuntamente, incluindo efeitos de epistasia e de múltiplos QTLs, para buscar, testar posições e verificar interações de vários QTLs, utilizando diferentes intervalos de marcadores simultaneamente. De posse da informação de múltiplos marcadores que flanqueiam QTLs é possível estimar a localização e o efeito fenotípico de QTLs individuais com maior precisão (PATERSON, 2009).

O mapeamento de QTLs é uma ferramenta potencialmente importante para o melhoramento genético por permitir que sejam identificadas regiões do genoma que controlam características importantes e possibilitar a seleção indireta para estas características. Além disso, a combinação de dados de mapeamento de QTLs e de informação de seqüências genômicas de bancos de dados de seqüência de DNA possibilita, através do emprego de métodos de bioinformática, a identificação de genes candidatos ao controle de tolerância aos diversos estresses.

Populações de linhagens puras recombinantes (*Recombinant Inbred Lines-RIL*) são comumente usadas no desenvolvimento de mapas de QTL (NAKATA *et al.*, 2002; ZHUANG *et al.*, 2002). Essas populações são geradas através do cruzamento entre linhagens puras e, a partir da geração F₂, são obtidas centenas de linhagens recombinantes através de auto-fecundação por SSD (*Single Seed Descent*) até a geração F₇ ou superior. O desenvolvimento desse tipo de população demanda tempo e trabalho, porém, obtém-se uma população de linhagens imortalizadas, com potencial de uso para obtenção de dados genéticos em diferentes estudos (COLLARD *et al.*, 2005). O elevado número de sementes de cada linhagem permite o desenvolvimento de diversos ensaios de fenotipagem em genótipos com alto nível de homozigose.

Mapeamento de QTLs de tolerância ao frio em arroz

Poucas regiões do genoma do arroz foram identificadas e associadas ao controle de tolerância ao frio (LILLEY *et al.*, 1996; PRIOUL *et al.*, 1997; KIM *et al.*, 2000; SAITO *et al.*, 2001). Os experimentos com este tema em geral são coibidos pela própria dificuldade de desenvolvimento dos ensaios fenotípicos. QTLs associados à tolerância ao frio foram detectados no genoma de outras gramíneas, e podem ser utilizadas para localizar regiões associadas ao controle destas características em arroz por genética comparativa.

Grande parte dos trabalhos de mapeamento de QTLs em arroz foram desenvolvidos utilizando linhagens recombinantes oriundas do cruzamento entre variedades dos grupos *indica* e *japonica*, avaliando fases críticas do desenvolvimento

das plantas afetadas por baixas temperaturas, como a microesporogênese (ANDAYA & MACKILL, 2003) e a germinação ou pré-plântula (SUH *et al.*, 1999; ZHANG *et al.*, 2005). QTLs com efeitos variados no controle da capacidade da planta suportar baixas temperaturas estão envolvidos no controle de tolerância ao frio em arroz.

Alguns QTLs têm um forte efeito no fenótipo, enquanto outros participam do controle genético da característica, mas com um efeito bem menor. Interações gênicas também foram detectadas para tolerância à frio em arroz (ZHI-HONG *et al.*, 2004) para esta característica, corroborando a grande complexidade do controle genético da característica. Para o potencial isolamento ou clonagem de genes de tolerância à frio, naturalmente, não é possível o caminho da genética reversa, visto que para isso é necessário o conhecimento dos seus produtos. A estratégia alternativa à genética reversa é dissecar o controle genético da característica quantitativa através do mapeamento das regiões do genoma responsáveis pelo seu controle utilizando marcadores moleculares (FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1996).

Mapeamento de QTLs de tolerância à seca em arroz

Os programas de melhoramento genético não têm sido eficientes no desenvolvimento de variedades tolerantes à seca (BENNETT, 2003; TUBEROSA and SALVI, 2006). Esta ineficiência é devida, entre outros fatores, à complexidade da característica. O controle genético da tolerância à seca parece ser diferente nos diferentes estádios em que a planta é atingida pelo estresse hídrico. Isto é especialmente verdadeiro quando o estresse hídrico afeta toda a planta (raiz e parte aérea), levando a uma resposta sistêmica do organismo. Os métodos de avaliação de germoplasma para tolerância à seca dependem do tipo de solo, condições do tempo e outras variáveis ambientais que influenciam todo o processo de análise. Neste sentido, a avaliação de componentes de produtividade tem sido usada para dissecar a característica tolerância à seca. A premissa básica é que cada componente de produtividade tem um controle genético menos complexo do que produtividade *per se*. Análise de diversos componentes representa uma oportunidade de identificar os diferentes estádios da planta que afetam a produtividade sob condições de estresse hídrico.

Vários trabalhos foram desenvolvidos com esforços para caracterizar a genética da tolerância à seca, mas pela complexidade pertinente aos processos físicos e químicos envolvidos nos diferentes estádios de desenvolvimento da planta, pouco progresso foi alcançado até o momento (TRIPATHY *et al.*, 2000). Esforços continuam com o objetivo de identificar regiões de interesse para o controle da característica de tolerância à seca via mapeamento de QTLs, principalmente para parâmetros radiculares de morfologia de raiz (NORTON & PRICE, 2009), capacidade de penetração e diâmetro de raiz (CLARK *et al.*, 2008).

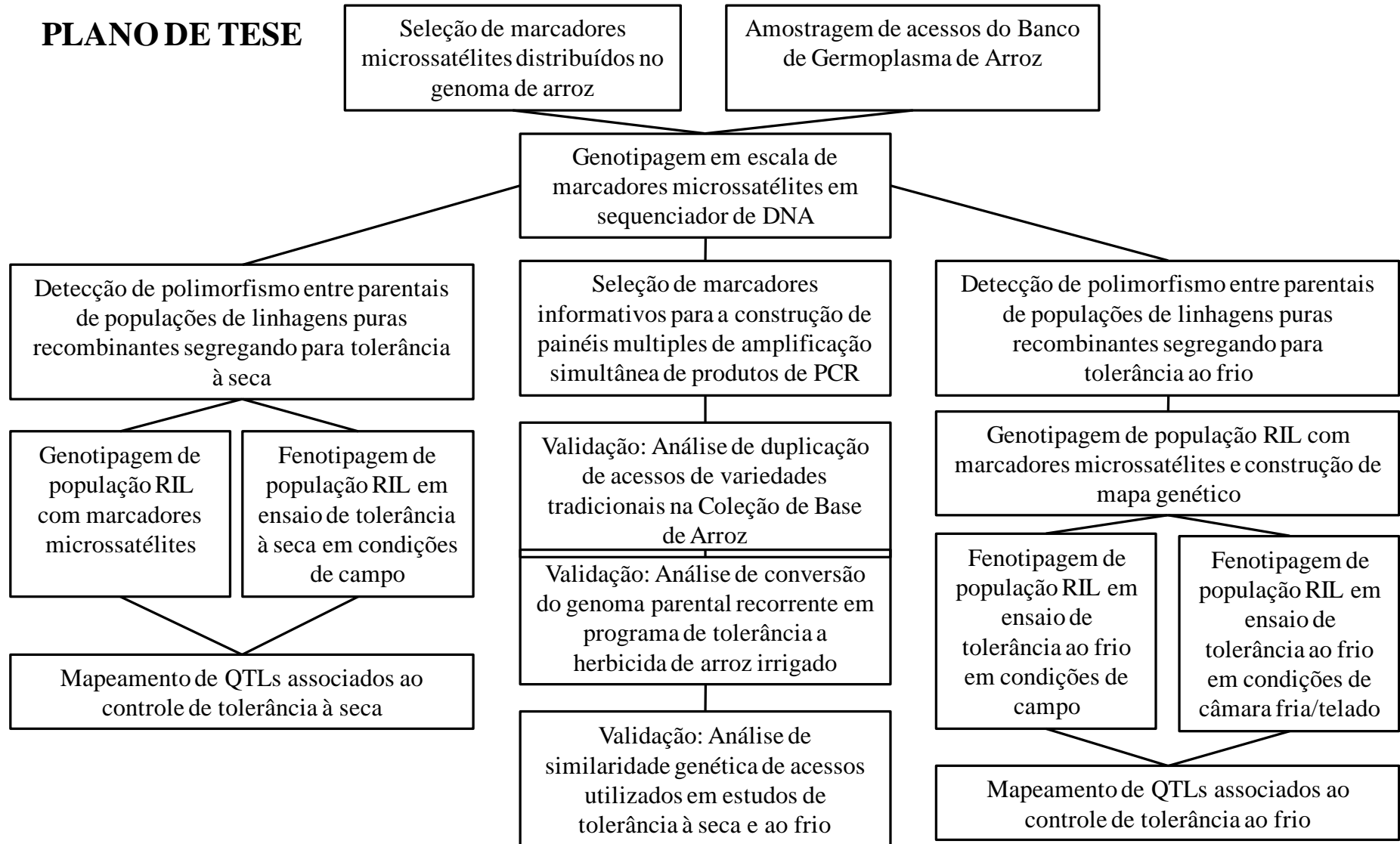
PLANO DE TESE

Capítulo 1: Desenvolvimento e validação de painéis multiplex de marcadores microsatélite para estudos genéticos de *Oryza sativa* L.

Capítulo 2: Mapeamento de QTLs para tolerância ao frio em linhagens puras recombinantes (RILs-F₇) derivada do cruzamento entre as variedades Chorinho x Amaroo

Capítulo 3: Mapeamento de QTLs para tolerância à seca em população de linhagens puras recombinantes (RILs-F₇) derivada do cruzamento entre as variedades Chorinho x Puteca

PLANO DE TESE



CAPÍTULO 1

Desenvolvimento e validação de painéis multiplex de marcadores microssatélites para estudos genéticos de *Oryza sativa* L.

Resumo

Microssatélites são marcadores moleculares co-dominantes que revelam polimorfismo em regiões hipervariáveis do DNA e apresentam-se distribuídos por todo o genoma eucarioto. Estes marcadores permitem estimativas robustas de parâmetros genéticos em populações naturais e coleções de germoplasma, e têm vasta aplicabilidade em programas de melhoramento genético. O uso de painéis de marcadores microssatélites possibilita a genotipagem semi-automatizada de vários locos simultaneamente para a caracterização de um grande número de acessos. O desenvolvimento de painéis multiplex requer o ajuste de condições metodológicas que possibilitem a genotipagem simultânea de um grande número de locos independentes, com elevado conteúdo informativo e variabilidade alélica. Neste trabalho, 441 locos microssatélites marcados com fluorocromos foram usados na genotipagem de 28 acessos de arroz (27 acessos de *O. sativa* e 1 acesso de *O. glumaepatula*) do Banco de Germoplasma da espécie e que foram utilizadas para a formação de populações de mapeamento para resistência à brusone, tolerância à seca, tolerância ao frio e qualidade de grão. Baseado nas informações geradas pelos ensaios laboratoriais foi selecionado um conjunto de 41 locos distribuídos nos 12 cromossomos da espécie, que permitiram o desenvolvimento de oito painéis multiplex com amplificações simultâneas. Cada painel possui um loco em comum com os demais, utilizado como controle de genotipagem, minimizando potenciais erros de análise. Na seleção de locos para construção de painéis foram avaliados parâmetros como: qualidade e repetibilidade dos produtos de PCR, possibilidade de combinação máxima das fluorescências marcadas dos iniciadores, amplitude alélica de cada loco, número de alelos detectados para cada loco, o motivo da sequência repetitiva de cada loco (di, tri ou tetranucleotídeos), conteúdo polimórfico informativo (PIC), dentre outras características. A validação dos oito painéis de marcadores microssatélites foi feita através de teste de identidade genética para a detecção de acessos duplicados na Coleção de Base de Arroz, estimativa do percentual de conversão do genoma em programa de retrocruzamento para resistência a herbicida e

estimativa das relações de vínculo genético entre acessos do Banco de Germoplasma de Arroz. Os dados obtidos neste trabalho demonstram que o emprego de painéis de marcadores microssatélites com reação única de polimerase em cadeia é uma metodologia acurada, rápida e altamente informativa, que permite a genotipagem de um elevado número de acessos de arroz, favorecendo o gerenciamento e uso dos recursos genéticos nos programas de conservação e melhoramento.

1.1 INTRODUÇÃO

Microssatélites são marcadores moleculares baseados em regiões hipervariáveis do DNA que formam conjuntos de 1 a 6 pares de bases com diferentes números de repetições, também conhecidas como “short tandem repeats – *STR*” (Ferreira e Grattapaglia, 1996). Estas regiões são distribuídas por todo o genoma eucarioto, e podem ser analisadas por meio dos produtos da reação de polimerase em cadeia (PCR). A amplificação de alelos nestes locos marcadores é baseada em iniciadores de PCR localizados em regiões adjacentes à região repetitiva. Diferenças nos tamanhos dos fragmentos gerados via PCR podem ser detectadas por eletroforese em géis verticais de poliacrilamida ou sistema de capilares com detecção semi-automatizada, através de excitação de fluorocromos ligados aos iniciadores induzida por laser em sequenciador automático de DNA. Estas regiões são altamente polimórficas e co-dominantes. A técnica de análise de microssatélites tem sido utilizada em estudos genéticos de várias espécies.

As regiões com microssatélites apresentam mutações com maior frequência, que ocorrem nas suas extremidades, por isso, seu elevado grau de polimorfismo. O elevado número de alelos por loco e a abundância de alelos em baixa frequência em uma determinada população contribuem para a excelente aplicação destes marcadores em estudos genéticos.

Em geral, quanto maior o número de nucleotídeos da unidade repetitiva do microssatélite, menor é a sua frequência no genoma (McCOUCH, 1997). Os microssatélites formados por tetranucleotídeos, em geral em menor abundância no

genoma de arroz do que aqueles baseados em repetições de di e de trinucleotídeos (GOFF *et al.*, 2002), tendem a apresentar também menor polimorfismo (HALL *et al.*, 1996; PESSOA FILHO, 2004). Nas regiões gênicas, as seqüências de DNA das regiões não traduzidas ou de íntrons, normalmente contém mais repetições de di e tetranucleotídeos que regiões traduzidas, onde os trinucleotídeos encontram-se em maior quantidade (KOTA *et al.*, 2001; CARDLE *et al.*, 2000; YU *et al.*, 1999; SMULDER *et al.*, 1997). Em arroz, a maioria das seqüências repetitivas são de trinucleotídeos, concomitante a proporções reduzidas de tetranucleotídeos (AKAGI *et al.*, 1996; GOFF *et al.*, 2002; YU *et al.*, 2002).

Todas as características acima mencionadas, e ainda, a herança mendeliana co-dominante dos microssatélites, favorecem estimativas robustas de vínculo ou identidade genética com base nestes marcadores. Microssatélites são altamente eficazes e acurados em análises filogenéticas, análises de mapeamento genético, genômica comparativa, avaliação de germoplasma, discriminação genotípica, análises de diversidade genética, avaliação de estruturação de populações, rotinas de conversão de linhagens via seleção assistida por marcadores, dentre outros (FERREIRA E GRATTAPAGLIA, 1996).

A eficiência do emprego de marcadores microssatélites em análise genética está relacionada à maximização da genotipagem em vários locos simultaneamente. Quanto maior o número de locos microssatélites analisados com uma única reação de polimerase em cadeia, mais eficiente o processo de genotipagem se torna. Portanto, a caracterização de um conjunto de locos microssatélites permite selecionar um conjunto de locos com elevado conteúdo informativo para a formação de painéis de marcadores para análise simultânea de vários locos. O uso de painéis de marcadores microssatélites aumenta a capacidade de genotipagem de um grande número de acessos, linhagens ou indivíduos em sistema semi-automatizado, permitindo a caracterização genotípica dos mesmos de forma rápida e altamente informativa (PESSOA-FILHO, 2007). A possibilidade de combinação de locos microssatélites devido à marcação dos iniciadores de PCR com diferentes fluorescências para análise em sequenciadores de DNA, permite aumentar consideravelmente a quantidade de informação gerada em cada reação de amplificação.

O desenvolvimento de painéis multiplex teve início com o uso de fragmentos de DNA gerados através de enzimas de restrição que por sua vez eram marcados com diferentes fluorescências e genotipados em sistema semiautomatizado (CARRANO *et al.*, 1989). Em seguida, a análise com diferentes fluorescências foi adotada para uso em locos microssatélites, que permitiu a eletroforese e análise simultânea destes marcadores. O uso de fragmentos de SSR em três diferentes fluorescências amplificados separadamente e misturados para análise em seqüenciador de DNA, foi realizado por ZIEGLE *et al.* (1992). Em 1991, EDWARDS *et al.* desenvolveram painel multiplex com reação de polimerase PCR e detecção simultâneas de locos tri e tetranucleotídeos em sistema fluorescente. Os primeiros painéis descritos para marcadores microssatélites do cromossomo Y foram feitos com a utilização de três marcadores (KAYSER *et al.*, 1997; PRINZ *et al.*, 1997) outros foram descritos com reação de amplificação em conjunto (BUTLER *et al.*, 2002; BOSCH *et al.* 2002; SCHOSKE *et al.*, 2004; BELEZA *et al.*, 2004). Painéis de marcadores SSRs e SNPs de cromossomo Y e painel de marcador SNP para DNA mitocondrial foram descritos por VALLONE (2002), que são recomendados para análises forenses em linhagem patrilínea ou matrilinea, em casos de limitação de informação nos testes de identificação, ou ainda, pela possibilidade de contaminação de amostras do DNA entre indivíduos de diferentes sexos (GILL, *et al.*, 2001).

Apesar da importância da espécie, poucos são os estudos voltados para o desenvolvimento de painéis multiplex de locos microssatélites em arroz. Análise simultânea de vários locos em uma única eletroforese foram descritos para acessos do banco de germoplasma (McCOUCH *et al.*, 2004; Jain & McCOUCH, 2004), mas nestes casos as reações de PCR foram feitas individualmente e os produtos de reação misturados para a análise de fragmentos. COBURN *et al.* (2002) utilizou amplificação individual e eletroforese semi automatizada com média de 8 locos por painel para um total de 159 marcadores SSR cobrindo os 12 cromossomos da espécie nas análises de 13 variedades cultivadas de arroz pertencentes às subespécies *indica e japônica*. Recentemente, porém, três painéis de 16 locos (dois pentaplexes e um hexaplex) foram disponibilizados para estudos genéticos de arroz, possibilitando a amplificação simultânea de alelos em locos microssatélites distribuídos pelo genoma (PESSOA FILHO *et al.*, 2007). Um novo conjunto de painéis (dois tetraplexes e um pentaplex) para genotipagem simultânea de microssatélites ligados a genes da via metabólica de

amido associados à qualidade de grãos de arroz também foi desenvolvido (LACERDA, 2009).

O presente trabalho teve por objetivo a caracterização de centenas de marcadores microssatélites distribuídos no genoma de arroz. As sequências microssatélites consistiram em repetições de motivos de di, tri e tetranucleotídeos. O objetivo foi o desenvolvimento de painéis para amplificação simultânea de alelos de marcadores microssatélites para estudos genéticos de arroz. Na seleção dos marcadores para construção de painéis multiplex foram avaliados parâmetros quantitativos (Diversidade Gênica, Conteúdo de Informação Polimórfica (PIC), número de alelos, etc.), qualitativos (robustez, qualidade, consistência) dos marcadores analisados, além da possibilidade de combinação dos marcadores em painéis de amplificação simultânea pelas diferentes fluorescências marcadas nos iniciadores.

Os painéis multiplex desenvolvidos neste trabalho foram avaliados em três estudos genéticos. O primeiro estudo testou a identidade genética de acessos do Banco de Germoplasma de arroz com o mesmo nome de registro para a verificação de duplicação de genótipos em germoplasma conservado. O segundo estudo estimou o percentual de conversão do genoma de linhagens parentais recorrentes em programa de introgressão de gene de resistência a herbicida da classe imidazolinona em arroz irrigado. O terceiro estudo estimou as relações de vínculo genético entre acessos *indica* e *japonica*, com variabilidade para tolerância à seca e ao frio, comparando a eficiência de alguns painéis multiplex com o emprego de extensas conjuntos de marcadores microssatélites na análise de Bancos de Germoplasma.

1.2 OBJETIVO GERAL

Seleção, desenvolvimento e caracterização de regiões hipervariáveis para a obtenção de painéis de amplificação simultânea de alelos em locos microssatélites para estudos genéticos de arroz.

1.2.1 Objetivos específicos

- Selecionar marcadores microssatélites distribuídos no genoma de arroz;
- Genotipar acessos do Banco de Germoplasma de Arroz com um conjunto de 441 marcadores microssatélites marcados com diferentes fluorescências;
- Estimar parâmetros genéticos para cada marcador através de estatísticas descritivas;
- Selecionar os marcadores microssatélites mais informativos para estudos genéticos de arroz;
- Testar os marcadores mais informativos em ensaios de PCR de amplificação alélica simultânea;
- Desenvolver painéis multiplex de locos microssatélites;
- Estimar de valores combinados de Probabilidade de Exclusão e Probabilidade de Identidade para os painéis multiplex desenvolvidos;
- Validar os painéis desenvolvidos através de estudos genéticos: 1) teste de identidade genética para a detecção de acessos duplicados no Banco de Germoplasma de Arroz utilizando painéis multiplex de microssatélites; 2) estimativa do percentual de conversão do genoma em programa de retrocruzamento para resistência a herbicida; 3) estimativa das relações de vínculo genético entre acessos do Banco de Germoplasma de Arroz para definição de cruzamentos para tolerância à seca, ao frio e à brusone.

1.3 MATERIAL E MÉTODOS

1.3.1 Seleção de Marcadores Microssatélites no Genoma de Arroz

Um conjunto de 2.217 regiões de sequência simples repetidas em tandem, identificadas e listadas no portal Gramene (www.gramene.org), incluindo 1.187 microssatélites constituídos por motivos dinucleotídeos, 762 trinucleotídeos e 268 tetranucleotídeos, foi utilizado como referência inicial para a seleção de marcadores

microssatélites distribuídos por todo o genoma de arroz com potencial de uso em estudos genéticos da espécie. Sequências microssatélites constituídas de penta e hexanucleotídeos não foram consideradas para seleção devido ao peculiar baixo polimorfismo observado em *Oryza*. Foram incluídos ainda 34 marcadores microssatélites localizados na região de genes da via metabólica de amido (Lacerda, 2009), associados à qualidade de grãos de arroz, que incluem: duas isoformas de ADP-glucose pirofosforilase SS (AGPS1 e AGPS2) e uma ADP-glucose pirofosforilase LS (AGPL2), três isoformas de sintase de amido (SSIIa; SSIIb e waxy), três enzimas de ramificação de amido (SBE-I, SBE-IIa e SBE-IIb) e duas enzimas de desramificação de amido (DBE-isoamilase e DBE-Pullulanase). Os seguintes critérios foram utilizados para a seleção dos microssatélites considerados para análise no presente trabalho:

- (a) composição de motivo simples e perfeita (repetições homogêneas de di, tri e tetranucleotídeos);
- (b) número de repetições do motivo na cultivar padrão Nipponbare acima de seis;
- (c) disponibilidade de informações genéticas complementares da região hipervariável ou do marcador em outros estudos genéticos;
- (d) disposição relativa do marcador ao longo do genoma (posição em mapa genético e mapa físico), priorizando marcadores dispersos por todo o genoma e evitando a inclusão de marcadores com localização muito próxima no mapa físico);
- (e) minimização de marcadores em região centromérica, avaliada com base em posicionamento no mapa físico;
- (f) informação sobre qualidade e robustez do marcador, quando disponível, buscando imagens de géis e a descrição dos marcadores em mapas genéticos e outros estudos;
- (g) minimização do uso de marcadores com *Tm* muito elevada (acima de 66°C) ou *indica* ou *japonica* específicos.

Com base nestes critérios, foram selecionados 441 marcadores para este estudo. Os testes laboratoriais (ensaios de PCR) dos 441 marcadores microssatélites foram inicialmente realizados com a cultivar padrão Nipponbare, cujo DNA foi empregado no

seqüenciamento do genoma estrutural de arroz (GOFF et al., 2002; YU et al., 2002). Os dados de amplificação, repetibilidade e qualidade dos eletroferogramas baseados na cultivar padrão Nipponbare possibilitaram a seleção dos marcadores microssatélites com maior qualidade de produtos de PCR, mais robustos e potencialmente mais informativos para emprego em painéis de avaliação simultânea de polimorfismo em vários locos (painéis multiplex). Estes marcadores foram então avaliados em detalhe com um conjunto de acessos do Banco de Germoplasma de Arroz (Amostra 28) e os dados compilados para a obtenção de estatísticas descritivas de cada marcador.

1.3.2 Extração de DNA

Para a extração de DNA de acessos de arroz usados neste estudo, aproximadamente 150 mg de folhas de plântulas de arroz germinadas em placas de Petri foram utilizadas para a extração de DNA baseada no protocolo CTAB (FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1998). As amostras de folhas foram pulverizadas em máquina “FastPrep” BIO101 com o uso de esferas de cerâmica juntamente com 700 µL de tampão CTAB 2X (2% acetyldimethyl tiethylammonium bromide – CTAB, 1,4 M NaCl, 20 mM EDTA, 100 mM Tris-HCl pH=8,0 1% polyvinylpyrrolidone, 0,2% 2-mercaptoethanol). As amostras foram incubadas por 50 min a 65°C para a solubilização e homogeneização da suspensão, com agitação a cada 10 min. Com as amostras em temperatura ambiente, foi adicionado 600 µL de clorofórmio-álcool isoamílico (24:1) à cada amostra e centrifugação a 11.000 rpm durante 10 min. O sobrenadante foi transferido para um novo tubo e os ácidos nucleicos foram precipitados com 400 µL de isopropanol. Foi obtido o precipitado (“pellet”) após centrifugação a 11.000 rpm durante 15 min, que foi lavado duas vezes com 500 µL de etanol 70% e secado “overnight” a temperatura ambiente. Os “pellets” foram eluídos com tampão TE (10mM Tris-HCl, pH=8,0, 1 mM EDTA) contendo RNase (10mg/mL) para degradação do RNA e isolamento do DNA genômico durante três horas a temperatura ambiente. A concentração de DNA foi estimada em eletroforese de gel de agarose 1% contendo brometo de etídeo (0,15 µg/mL) (Sambrook *et al.*, 1989), utilizando padrões de 100 e 200 ng. O DNA foi diluído em água MilliQ para uma concentração de 2ng/µL.

1.3.3 PCR e análise de fragmentos de marcadores microssatélites de arroz

A avaliação individual dos 441 marcadores microssatélites selecionados para a análise, combinada com a necessidade de amostrar dezenas de acessos do Banco de Germoplasma para avaliação de parâmetros genéticos e da qualidade analítica de cada marcador, representa um obstáculo pela quantidade de trabalho envolvido nesta tarefa. Como estratégia, o conjunto de 441 marcadores microssatélites, marcados com três diferentes fluorocromos (6-FAM-azul, HEX-verde e NED-amarelo), foi primeiramente avaliado com o software Multiplexer (COELHO, A., UFGO, não publicado) para a formação de conjuntos de locos em triplex para genotipagem. Esta análise minimizou o número de reações, possibilitando a avaliação de um número significativo de marcadores para uso em PCRs simultâneos.

Cada marcador em painel triplex foi testado na genotipagem de uma amostra de 28 acessos do Banco de Germoplasma de Arroz, constituída por cultivares, linhagens e variedades tradicionais cultivadas em sistemas de produção de arroz irrigado e de sequeiro (Tabela 1). O DNA extraído de cada acesso seguiu o protocolo descrito anteriormente. As amplificações de cada painel triplex foram realizadas em um volume total de reação de 6 μ L, utilizando-se 4 ng de DNA, tampão 1X (10 mM Tris/HCl pH 8,3 50mM de KCl), dNTP 0,4 mM, BSA 0,2 μ g/ μ l, $MgCl_2$ 1,5 mM, *Taq* polimerase 2U (Phonutria, Belo Horizonte-MG) e água milliQ autoclavada.

Tabela 1-. Acessos do Banco de Germoplasma de Arroz (Amostra 28) usados na avaliação dos 441 marcadores microsatélites distribuídos no genoma de arroz.

Variedade	Característica de interesse
BRS Formoso	Cultivar de arroz irrigado, suscetível à brusone e moderadamente suscetível a mancha de grãos, recomendada para plantio em sistema irrigado por inundação controlada ou em várzea úmida.
BRS Diamante	Cultivar de arroz irrigado oriunda de cruzamento triplo realizado no CIAT, Colômbia, e introduzida no Brasil por pesquisadores da Embrapa Arroz e Feijão. A linhagem é moderadamente resistente à brusone e resistente a mancha de grãos; recomendada especialmente para plantio em sistema irrigado por inundação controlada.
CNA8502	Linhagem de arroz irrigado, parental recorrente de programa de piramidização de genes de resistência à brusone do arroz.
BRS Primavera	Cultivar de arroz de sequeiro, derivada do cruzamento entre as cultivares IRAT 10 e LS 85-158, lançada em 1987; suscetível à brusone, apresenta resistência à escaldadura foliar e à mancha-de-grãos; Apresenta produtividade média e é exigente quanto ao ponto de colheita; a cultivar Primavera destaca-se como uma variedade com alta qualidade de grãos.
CNAi9930	Linhagem de arroz irrigado desenvolvida por retrocruzamento avançado de QTLs (<i>Advanced Backcross QTL Analysis</i>) a partir do cruzamento entre <i>Oryza sativa</i> (BG90-2) e <i>Oryza glumaepatula</i> (RS-16) (Brondani et al., 2002); a linhagem apresenta alta produtividade e alta capacidade de perfilhamento; apresenta potencial de colheita deduas safras, a segunda a partir de irrigação da soca da primeira colheita; suscetível a mancha de grãos e resistente a brusone.
CNAi9022	Linhagem de arroz irrigado, fonte de resistência à brusone do arroz.
CNAi9029	Linhagem de arroz irrigado, fonte de resistência à brusone do arroz.
Oryzica Llanos4	Cultivar de arroz irrigado, originária da Colômbia, desenvolvida pelo Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT); resistente à brusone e à mancha de grãos
Oryzica Llanos5	Cultivar de arroz irrigado, originária da Colômbia, desenvolvida pelo Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT); resistência durável à brusone;
Oryzica 1	Cultivar de arroz irrigado, originária da Colômbia, desenvolvida pelo Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT); apresenta resistência à brusone e é moderadamente resistente a mancha de grãos;
5287	Linhagem de arroz irrigado, fonte de resistência à brusone.

Colombia 1	Cultivar de arroz irrigado, originária da Colômbia, desenvolvida pelo Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT);
CNA 8212	Linhagem de arroz de sequeiro; linhagem quase-isogênica (NIL) obtida do cruzamento entre IAC-25 e C46-15, pela Embrapa arroz e Feijão, visando a introgressão de genes de cultivares exóticas provenientes de arroz <i>indica</i> , apresentando moderado a alto grau de resistência à brusone;
CNA 8198	Linhagem de arroz sequeiro; linhagem quase- Isogênica (Nils) obtida pelo cruzamento entre IAC-25 e Carreon, pela Embrapa arroz e Feijão, visando a introgressão de genes de resistência à brusone. Essas linhagens apresentaram moderado a alto grau de resistência à brusone;
C101-A51	Linhagem de arroz de sequeiro; linhagem quase-isogênica de arroz de sequeiro (NIL) (Mackill & Bonman 1992), desenvolvida pelo <i>Internacional Rice Research Institute (IRRI)</i> , com genes dominantes de resistência à brusone
Rantulasi	Cultivar de arroz irrigado (CNA0010681); originária das Filipinas, resistente a brusone e a mancha de grãos;
RS-16	Acesso da espécie silvestre <i>Oryza glumaepatula</i> , originária da região Amazônica.
BG 90-2	Linhagem de arroz irrigado (CNA00005860) - alta produtividade, resistente a brusone e moderadamente resistente a mancha de grãos;
Chorinho	Variedade tradicional de arroz de sequeiro; sub-espécie <i>japonica</i> tropical; cultivada em condição de várzea úmida no sul do estado de Minas Gerais; tolerância moderada à seca.
Puteca	Variedade tradicional de arroz de sequeiro (CA780217); sub-espécie <i>japonica</i> tropical; variedade cultivada em sistemas de terras altas, coletada no Estado de Goiás.
Bico Ganga	Variedade tradicional de arroz de sequeiro; coletada em Ouro Preto do Oeste-RO; resistente a brusone e a mancha de grãos;
Zenith	Cultivar de arroz sequeiro e várzea úmida (<i>japonica</i> temperado); moderadamente resistente a brusone e moderadamente suscetível à mancha de grãos
Farroupilha	Variedade tradicional de arroz irrigado (CA940007) (<i>japonica</i> temperado); variedade tradicional originária no Rio Grande do Sul, moderadamente resistente a brusone e a mancha de grãos;

Amaroo	Cultivar comercial de arroz irrigado (<i>japonica</i> temperado), muito cultivada na Austrália (CNA13218); apresenta tolerância moderada a baixas temperaturas
BRSMG Curinga	Cultivar de arroz de sequeiro e várzea úmida. Foi originada inicialmente de uma família selecionada na geração F3, pelo Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), na Colômbia, depois melhorada pela Embrapa Arroz e Feijão. Linhagem com dupla aptidão de plantio, indicada para cultivo em condições de terras altas (sequeiro) e várzeas. A primeira cultivar agulhinha de alta qualidade de grãos recomendada para as condições de várzea úmida ou drenada de Minas Gerais. Apresenta arquitetura com folhas eretas, semelhantes à de arroz irrigado por submersão, com boa resistência à seca e a alumínio tóxico, moderadamente resistente a brusone e suscetível a mancha de grãos, e alto potencial de produção, mesmo no cultivo de terras altas.
IRGA417	Cultivar de arroz irrigado. Originária do cruzamento do F1 de New Rex/IR19743-25-2-2 com BR-IRGA 409, realizada pelo IRGA-EEA. Possui grão agulhinha com alto teor de amilose, baixa temperatura de gelatinização e rendimento industrial de 62% de grãos inteiros quando polidos. Possui sensibilidade média à toxicidade por ferro, bem como ao frio na fase reprodutiva das plantas. Possui resistência moderada à brusone e à mancha dos grãos.
CNA10928	Linhagem de arroz irrigado, com arquitetura modificada de panícula (multiespigueta) e capacidade fotossintética durante a maturação dos grãos (stay-green).
Nipponbare	Cultivar de arroz irrigado (<i>japonica</i> temperado); originária do Japão; cultivar padrão utilizada no seqüenciamento do genoma estrutural do arroz (Goff et al., 2002; IRGSC, 2003).

As concentrações dos iniciadores no volume final de reação foram 0,13 μM (6-Fam e Ned) e 0,26 μM (Hex). As reações de amplificação foram feitas em placas de PCR para 384 amostras em termociclador GeneAmp PCR System 9700 (Perkin-Elmer), com bloco para duas placas de 384. O seguinte programa de termociclador foi usado para a amplificação de produtos de PCR: (1) 94°C por 5 min, (2) 94°C por 1 min (3) 52°C-67°C por 1min, conforme temperatura de anelamento do iniciador (4) 65°C por 2 min, (5) passos 2, 3 e 4 por 30 vezes e (6) 65°C por 7 min.

A detecção dos fragmentos amplificados foi realizada em seqüenciadores automáticos de DNA modelos ABI Prism 377 e ABI 3700. O carregamento dos géis no ABI Prism 377 empregou uma alíquota de 2 μl de produto de PCR misturada com 2 μl de mix [1 μl de tampão de carregamento -98% formamida, 10 mM EDTA-blue dextran- e 1 μl de um marcador padrão de tamanho conhecido produzido no próprio laboratório (BRONDANI & GRATTAPAGLIA, 2001)]. A reação foi desnaturada por 5 min em termociclador ABI 9700 e uma alíquota de ≈ 3 μl de amostras carregada em géis de poliacrilamida “Long Ranger” a 4% em tampão TBE 1X . No seqüenciador ABI 3700 os fragmentos de DNA foram detectados com base em alíquotas de 1 μl de produto de PCR diluídas 5x, seguida da adição de um volume total de 9 μl de mix (8 μl de HIDI com 0,35 μl de marcador padrão e 0,65 μl de ddH₂O), desnaturadas por 5 minutos. Os produtos foram eletroinjetados em seqüenciador automático de DNA (ABI 3700, Applied Biosystems) e utilizado o filtro D para captação das fluorescências. As eletroforeses foram realizadas a 3.000 V por aproximadamente 2h30 min.

1.3.4 Caracterização genética e analítica de marcadores microssatélites de arroz

As análises de tamanho dos fragmentos microssatélites foi realizada utilizando o programa GeneScan e os alelos amplificados foram determinados utilizando o programa Genotyper versão 2.5.2 (Applied Biosystems) baseado em tamanho de fragmento padrão de cada amostra, determinado manualmente. Os dados genotípicos gerados com duas casas decimais de precisão foram arredondados com base nas informações de motivo do microssatélite utilizando o software Allelobin, que emprega um método de minimização através de quadrados mínimos (IDURY & CARDON, 1997) (Anexo 1).

As estatísticas descritivas de cada marcador foram estimadas pelo programa PowerMarker (v.3.25) (LIU & MUSE, 2005). Para estas estimativas, o acesso RS-16 (*O. glumaepatula*) e o acesso CNAi9930, quase-isogênico a BG90-2, foram removidos da análise. Assim, para cada marcador microssatélite testado foram estimados com base nos 26 acessos de arroz genotipados (Tabela 1), os seguintes parâmetros: número de alelos observados em cada loco (No); a heterozigidade observada (Ho); a diversidade gênica (DG), segundo a fórmula $[GDe] = (1 - \sum_i p_i^2)(2n)/(2n-1)$, onde p_i é a frequência do *iesimo* alelo para cada loco e n o número de amostras analisadas (Nei, 1987); o conteúdo informativo de polimorfismo (PIC), que estima como o grau de polimorfismo em um loco marcador influencia a probabilidade de detecção de ligação com um loco referência, ou a probabilidade de uma progênie de uma linhagem parental que possui um alelo raro permitir a dedução do genótipo da linhagem parental no loco marcador (BOTSTEIN *et al.*, 1980).

Para avaliar os marcadores microssatélites mais informativos, foi realizada uma análise de coordenadas principais (*Principal Coordinate Analysis*) da matriz de genótipos de 441 marcadores microssatélites testados em 28 acessos da COLBASE (ANEXO 1). Para isto, os dados genotípicos dos 441 de marcadores foram utilizados para maximizar a variância entre marcadores utilizando o módulo PCOORDA programa NTSYSpc versão 2.10z (ROHLF, 1998), projetá-las em eixos de coordenadas ortogonais e discriminar os marcadores com diferentes níveis de informação. Além disso, foi estimada a distância entre os 441 marcadores em comparações par-a-par com base na razão entre a soma das proporções de alelos em comum entre dois marcadores no mesmo conjunto de acessos de arroz (Ps) (Tabela 1) e duas vezes o número de acessos testados, utilizando o coeficiente de banda (*band coefficient*; LYNCH, 1990) implementado no programa NTSYSpc versão 2.10z (ROHLF, 1998). A matriz diagonal de distâncias genéticas foi submetida a análise de agrupamento pelo procedimento de SAHN (*Sequential Agglomerative Hierarchical Nested Cluster Analysis*), usando o método UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method, Arithmetic Average*) e um dendrograma de distâncias genéticas foi construído com o programa NTSYSpc versão 2.10z (ROHLF, 1998).

Para testar o poder dos painéis em relação à capacidade de discriminação genética, a Probabilidade de Identidade (PI), definida como $PI = \sum p_i^4 + \sum (2p_i p_j)^2$ (SEFC *et al.*, 1999), foi estimada nos marcadores selecionados. Este parâmetro define a probabilidade de dois indivíduos ao acaso de uma mesma população apresentarem genótipos idênticos com os

mesmos marcadores testados. Foi ainda calculado o Poder de Exclusão (PE) combinado de um painel multiplex, que estima a probabilidade de excluir um indivíduo selecionado casualmente numa população de ser um dos parentais de um indivíduo analisado, segundo a fórmula $PE = \sum p_i (1-p_i)^2 - 1/2 \sum p_i^2 p_j^2$ (WEIR, 1996).

1.3.5 Desenvolvimento de painéis multiplex de locos microssatélites

Amplificação de alelos em painéis multiplex de locos microssatélites - As reações de PCR realizadas com os painéis multiplex foram realizadas com reagentes de laboratório (testes “caseiros”) e com o Kit QIAGEN® Multiplexer. Para o Kit QIAGEN® os ensaios de PCR foram realizados com 2 ng de DNA, 2,5 µM de Master mix, 0,5 µM de Q-Solution, , 5µM de primers marcados (0,2 µl), adicionando-se H2O RNAfree até completar o volume da reação para 5 µL. As reações foram amplificadas sob as condições: (1) 95°C por 15 min; (2) 94°C por 30 seg; (3) 56°C por 90 seg; (4) 72°C por 1 min; (5) passos 2, 3 e 4 por 35 vezes e (6) 60°C por 30 min para extensão final. As condições de análise de fragmentos amplificados seguiram os procedimentos descritos anteriormente.

Combinação de locos marcadores em painéis multiplex - A seleção dos locos para construção dos painéis multiplex foi baseada nos seguintes critérios:

- (1) Inicialmente, parâmetros analíticos como a repetibilidade dos produtos de PCR em genotipagens sucessivas, caracterizando a consistência das reações de polimerase em cadeia, indicaram marcadores candidatos à realização de testes mais específicos.
- (2) Os genótipos dos acessos do Banco de Germoplasma de arroz foram compilados, os tamanhos de alelos ajustados com o emprego do programa Allelobin (Indury & Cardon, 1997) e usados para estimar a amplitude de variação de tamanho de alelos em cada um dos marcadores testados.
- (3) A possibilidade de combinação das fluorescências marcadas nos iniciadores com base na amplitude de variação alélica de cada loco, o motivo da seqüência repetitiva de cada loco e a posição do loco no genoma foram em seguida considerados para selecionar marcadores para compor os painéis multiplex.
- (4) As estatísticas descritivas de cada marcador permitiram selecionar os marcadores mais informativos para os testes de amplificação simultânea. Foram inicialmente considerados para a construção de painéis multiplex os marcadores com maior número

de alelos, maior diversidade gênica e PIC mais elevado. Tais estimativas foram obtidas conforme descrito anteriormente. Também foi levada em consideração a análise de coordenadas principais (*Principal Coordinate Analysis*) da matriz de genótipos dos 441 marcadores microssatélites testados nos 28 acessos da COLBASE (ANEXO 1) e a análise de divergência na discriminação de genótipos, conforme descrito anteriormente.

- (5) Em cada painel multiplex testado buscou-se a inclusão do maior número possível de marcadores localizados em cromossomos distintos. Foram testadas varias combinações dos marcadores, sempre tentando maximizar o maior número de marcadores por painel.
- (6) Buscou-se, por fim, a inclusão de um mesmo marcador (controle) em cada painel, repetido nos demais, para garantir a eficiência e minimizar erro humano no processo de genotipagem.

1.3.6 Avaliação da qualidade dos painéis multiplex de marcadores microssatélites

Após a seleção de marcadores para compor os painéis e da otimização das condições de PCR, cada painel foi submetido a testes para validar o seu emprego em análise genética de arroz. Os testes foram realizados para identificar a performance da amplificação conjunta de alelos nos diferentes locos microssatélites que compõem cada painel, utilizando a variedade padrão Nipponbare. Estes testes avaliaram a consistência e qualidade das amplificações, além do poder de discriminação genética de cada painel desenvolvido. Os testes foram realizados comparando a performance de cada painel utilizando o kit QIAGEN® Multiplexer PCR e ensaios “caseiros” (soluções preparadas no laboratório). Foram avaliados o tempo preparação dos ensaios de PCR, a qualidade dos eletroferogramas, a intensidade de *stuttering* nos eletroferogramas e falhas de amplificação de alelos painéis com número crescente de marcadores.

1.3.7 Validação de painéis multiplex de marcadores microssatélites para uso em estudos genéticos de arroz

Para testar o emprego de painéis multiplex em estudos genéticos de arroz, foram realizados três experimentos:

Teste de Identidade Genética para a Detecção de Acessos Duplicados no Banco de Germoplasma de Arroz Utilizando Painéis Multiplex de Microsatélites - Bancos de germoplasma conservam milhares de acessos, entre variedades comerciais, populações, variedades tradicionais e parentes silvestres. À medida que o número de acessos em bancos cresce, aumenta a inquietação sobre a qualidade das coleções no que tange, principalmente, à representação *ex situ* da diversidade genética da espécie. A pergunta latente é se as coleções representam a diversidade genética da espécie e apresentam qualidade adequada para uso presente e futuro (FERREIRA, 2008). Isto, naturalmente, só pode ser respondido através da análise de dados biológicos das coleções. Para isto, a caracterização das coleções de germoplasma é desafio e tarefa fundamental. Um passo importante neste processo é identificar as duplicações existentes na coleção. O custo de conservação de germoplasma duplicado, especialmente de coleções de longo prazo, é muito alto. Uma coleção de 10.000 acessos com 20% de amostras duplicadas acumularia em apenas 5 anos um custo extra de conservação similar ao custo de caracterização molecular de todas as amostras (FERREIRA, 2008). A caracterização genética de coleções de germoplasma é, pois, de grande valia para o gerenciamento adequado da coleção.

Conjuntos de marcadores microsatélites utilizadas em painéis multiplex de amplificação simultânea podem auxiliar significativamente na caracterização molecular de coleções de germoplasma, incluindo a detecção de duplicações em coleções. Neste trabalho, um teste de identidade genética para detecção de duplicações foi realizado utilizando 89 acessos do banco de germoplasma de arroz com registro idêntico de nome comum. Treze variedades tradicionais de arroz (Amostra 13), coletadas pela Embrapa ao longo de 35 anos em todo o território nacional, foram consideradas na análise (Tabela 2). Um dos critérios para a seleção das variedades foi evitar nomes óbvios, característicos de arroz (ex. dourado, amarelão, três meses) e concentrar em nomes menos óbvios para uma variedade (ex. Zebu, Nenenzinho), minimizando a possibilidade de seleção de genótipos distintos que dividem o mesmo nome. As denominações utilizadas nesta análise foram: Lageado, Bico Ganga, Chorinho, Farroupilha, Come Crú, Canela de Ferro, Rabo de Burro, Poupa Preguiça, Meruim, Nenenzinho, Palha Murcha, Pingo D'água e Zebu. A variedade Lageado aparece com a maior representatividade na COLBASE de Arroz, tendo sido testado neste experimento um total de 39 acessos com esta denominação. A COLBASE é a coleção de conservação a longo prazo de acessos de uma determinada espécie, mantida pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

Tabela 2 – Acessos de variedades tradicionais de arroz (Amostra 13) coletadas no território brasileiro apresentando a mesma denominação comum na COLBASE (Coleção de Base de Arroz), com potencial indício de duplicação do mesmo genótipo na coleção.

Denominação Comum	Nº na Coleção	CÓDIGO BRA	Outras Denominações
1- Lageado	6932	BRA- 194000 00	CA 800169
2- Lageado	6876	BRA- 193437 00	CA 800183
3- Lageado	477	BRA- 044121 00	L.C. 1575
4- Lageado	7917	BRA- 209147 00	CA 220033; HIBRA
5- Lageado	7921	BRA- 209180 00	CA 220037; HIBRA
6- Lageado	7949	BRA- 209465 00	CA 220065
7- Lageado	7991	BRA- 209881 00	CA 220122
9- Lageado	8049	BRA- 210463 00	CA 220228
10- Lageado	8064	BRA- 210617 00	CA 220244
11- Lageado	8097	BRA- 210943 00	CA 220279
12- Lageado	8099	BRA- 210960 00	CA 220282
13- Lageado	8119	BRA- 211168 00	CA 220304
14- Lageado	8131	BRA- 211281 00	CA 220318
15- Lageado	8372	BRA- 214361 00	CA 230190
16- Lageado	478	BRA- 044130 00	CA 790002; L.C. 1576
17- Lageado	453	BRA- 043885 00	CA 790011; L.C. 1539
18- Lageado	476	BRA- 044113 00	CA 790022; L.C. 1574
19- Lageado	461	BRA- 043966 00	CA 790029; L.C. 1559
20- Lageado	454	BRA- 043893 00	CA 790104; L.C. 1540
21- Lageado	462	BRA- 043974 00	CA 790110; L.C. 1560
22- Lageado	7820	BRA- 207675 00	CA 790126; LAGEADO
23- Lageado	529	BRA- 044881 00	CA 790128; LAGEADO
24- Lageado	612	BRA- 046264 00	CA 790183; LAGEADO
25- Lageado	610	BRA- 046248 00	CA 790218
26- Lageado	595	BRA- 045829 00	CA 790232
27- Lageado	599	BRA- 045934 00	CA 790234
28- Lageado	601	BRA- 045969 00	CA 790242
30- Lageado	607	BRA- 046124 00	CA 790265
31- Lageado	548	BRA- 045110 00	CA 790279
32- Lageado	556	BRA- 045195 00	CA 790287
33- Lageado	561	BRA- 045241 00	CA 790292

34- Lageado	659	BRA- 046892 00	CA 790305
35- Lageado	663	BRA- 046931 00	CA 790307
36- Lageado	654	BRA- 046841 00	CA 790324
37- Lageado	643	BRA- 046728 00	CA 790345
38- Lageado	491	BRA- 044261 00	CA 790367
39- Lageado	492	BRA- 044270 00	CA 790368
40- Lageado	499	BRA- 044342 00	CA 790369
41- Lageado	502	BRA- 044377 00	CA 790370
42- Lageado	504	BRA- 044393 00	CA 790371
43- Lageado	497	BRA- 044326 00	CA 790372
44- Lageado	498	BRA- 044334 00	CA 790377
45- Lageado	503	BRA- 044385 00	CA 790378
46- Lageado	495	BRA- 044300 00	CA 790380
47- Lageado	496	BRA- 044318 00	CA 790381
48- Lageado	501	BRA- 044369 00	CA 790382
49- Bico Ganga	7642	BRA- 205753 00	CA 860038
50- Bico Ganga	7650	BRA- 205842 00	CA 860062
51- Bico Ganga	7743	BRA- 206776 00	CA 870142
53- Chorinho	7572	BRA- 204846 00	CA 800100
54- Chorinho	7573	BRA- 204854 00	CA 800103
56- Chorinho	1618	BRA- 092541 00	CNA 791
57- Farroupilha	7200	BRA- 197629 00	CA 940005
58- Farroupilha	7113	BRA- 196746 00	CA 940007
59- Farroupilha	4172	BRA- 137928 00	CA 940008; KAU 82
60- Come Crú	7542	BRA- 204528 00	CA 780356
61- Come Crú	369	BRA- 043036 00	CA 790044; L.C. 1457
62- Come Crú	370	BRA- 043044 00	CA 790045; L.C. 1458
63- Come Crú	534	BRA- 044946 00	CA 790136; COME CRU BRANCO
64- Canela de Ferro	605	BRA- 046108 00	CA 790216
65- Canela de Ferro	606	BRA- 046116 00	CA 790217
66- Canela de Ferro	512	BRA- 044491 00	CA 790376
67- Canela de Ferro	600	BRA- 045942 00	CA 790167
68- Rabo de Burro	532	BRA- 044920 00	CA 790140
69- Rabo de Burro	645	BRA- 046752 00	CA 790347
70- Rabo de Burro	5688	BRA- 166456 00	CA 840113

71- Rabo de Burro	449	BRA- 043842 00	CA 790006; L.C. 1535
72- Poupa Preguiça	468	BRA- 044032 00	CA 790014; L.C. 1566
73- Poupa Preguiça	469	BRA- 044041 00	CA 790015; L.C. 1567
74- Poupa Preguiça	479	BRA- 044148 00	CA 790023; L.C. 1577
75- Poupa Preguiça	480	BRA- 044156 00	CA 790114; L.C. 1578
76- Meruim	7554	BRA- 204668 00	CA 780410
77- Meruim	7753	BRA- 206873 00	CA 870173
78- Meruim	703	BRA- 049361 00	-
79- Meruim	717	BRA- 049506 00	-
80- Nenenzinho	7944	BRA- 209414 00	CA 220060
81- Nenenzinho	7954	BRA- 209511 00	CA 220070
82- Nenenzinho	8058	BRA- 210552 00	CA 220238
83- Nenenzinho	7061	BRA- 196215 00	CA 780065
84- Palha Murcha	7810	BRA- 207446 00	CA 790260
85- Palha Murcha	537	BRA- 044997 00	CA 790267
86 - Palha Murcha	657	BRA- 046876 00	CA 790303
87- Palha Murcha	658	BRA- 046884 00	CA 790304
88- Pingo D'Água	540	BRA- 045039 00	CA 790271
89- Pingo D'Água	541	BRA- 045047 00	CA 790272
90- Pingo D'Água	547	BRA- 045101 00	CA 790278
91- Pingo D'Água	638	BRA- 046671 00	CA 790343
92- Zebu	613	BRA- 046281 00	CA 790246
93- Zebu	589	BRA- 045713 00	CA 790249
94- Zebu	552	BRA- 045152 00	CA 790283
95- Zebu	554	BRA- 045179 00	CA 790285

A extração de DNA das variedades tradicionais foi baseada em “bulks” de amostras de folhas de cada um dos acessos. Para isso, foram germinadas 60 sementes de cada acesso e amostras de folhas de >50 plantas com 3-4 semanas de idade foram coletadas, combinadas em “bulk” e usadas para extração de DNA (Figura 1)). A extração de DNA seguiu o protocolo descrito anteriormente. A genotipagem dos 89 acessos foi realizada com 17 marcadores distribuídos em 3 painéis multiplexes (Painéis G, H, I), de acordo com os procedimentos já descritos. Portanto, para cada acesso, foram realizadas apenas 3 reações de polimerase em cadeia (3 painéis) que possibilitaram a genotipagem de 17 locos.



Figura 1- Variedades tradicionais de arroz germinadas em bandeja com o uso de 60 sementes por variedade (>50 plantas) com 3-4 semanas de idade para coleta combinada em “bulk” usadas para extração de DNA.

Para a definição dos genótipos em cada loco marcador, os dados de tamanho de alelos foram analisados com o algoritmo de minimização de quadrados mínimos descrito por INDURY & CARDON (1997), e implementado no software Allelobin (INDURY & CARDON, 1997). Valores de similaridade genética foram estimados entre os 89 acessos em comparações par-a-par com base na razão entre a soma das proporções de alelos em comum entre dois acessos (Ps) nos locos microssatélites contidos nos três painéis e duas vezes o número de marcadores testados, utilizando o coeficiente de banda (*band coefficient*; LYNCH, 1990) implementado no programa NTSYSpc versão 2.10z (ROHLF, 1998). A matriz diagonal de distâncias genéticas foi submetida a análise de agrupamento pelo procedimento de SAHN (*Sequential Agglomerative Hierarchical Nested Cluster Analysis*), usando o método UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method, Arithmetic Average*) e um dendrograma de distâncias genéticas foi construído com o programa NTSYSpc versão 2.10z (ROHLF, 1998). O *background* genético (*indica* ou *japonica*) e as relações de vínculo genético dos 89 acessos de arroz que representam 13 denominações comuns repetidas no Banco de Germoplasma foram estabelecidos com base nesta análise (Tabela 2; Amostra 13). Acessos com o mesmo

genótipo em todos os locos analisados foram considerados idênticos. Acessos com genótipos distintos em pelo menos 3 ou mais locos microssatélites foram considerados diferentes.

Estimativa do Percentual de Conversão do Genoma em Programa de Retrocruzamento para Resistência a Herbicida - O uso de painéis de marcadores microssatélites aumenta a capacidade de genotipagem em sistema semi-automatizado, permitindo a caracterização de acessos de forma rápida, eficiente e altamente informativa (PESSOA-FILHO *et al.*, 2007). Recentemente, foram desenvolvidas quatro linhagens de arroz com resistência a herbicida da classe imidazolinona (ClearfieldTM), possibilitando um incremento na oferta de cultivares não-transgênicas de arroz para plantio em áreas infestadas com arroz vermelho, especialmente no Sul do Brasil (RANGEL *et al.*, 2009). Duas destas linhagens, CNA1074 e CNA10756, são oriundas da cultivar BRS 7 Taim, e outras duas, CNA10757 e CNA10758, são oriundas da cultivar BRS Pelota. A linhagem doadora do alelo de tolerância a herbicida foi o mutante 93AS3510. Além do cruzamento inicial entre a linhagem doadora e as cultivares parentais, foram realizados três retrocruzamentos e todo o processo de transferência do alelo de resistência foi conduzido em casa de vegetação. Os testes de progênies foram realizados na geração RC₃F₃, quando foram selecionadas as linhagens homozigotas para o alelo de tolerância. As quatro linhagens CL foram genotipadas com painéis multiplex de marcadores microssatélites de arroz desenvolvidos neste trabalho com o intuito de estimar o percentual de conversão das novas linhagens para o genoma das respectivas linhagens parentais recorrentes. Foram analisados dois painéis pentaplex, quatro painéis hexaplex, dois heptaplex, todos eles com um loco marcador em comum (RM6810), além de um painel triplex adicional (PESSOA-FILHO, *et al.*, 2007), totalizando 44 locos microssatélites. Para controle experimental, em todas as eletroforeses foi utilizada a cultivar Nipponbare, referência em estudos moleculares de arroz. A extração de DNA e análise de fragmentos seguiram os protocolos descritos anteriormente. Os dados foram utilizados para a caracterização da identidade genética de cada acesso pela identificação do perfil multiloco, estimar a distância genética par-a-par entre as quatro linhagens e os controle (BRS 7 Taim, BRS Pelota, 93AS3510, Nipponbare e IRGA-417) e outros 22 acessos do Banco de Germoplasma (Amaroo, BG90-2, Bico Ganga, Chorinho, CNAi 9930, Colombia 1, BRSMG Curinga, Diamante, Farroupilha, Formoso, IRGA 417, Oryzica Llanos 4, Oryzica Llanos 5, Oryzica 1, BRS Primavera, Puteca, Rantulasi, Zenith, BRS 7 Taim), além de estimar o grau de conversão genética observada no processo de introgressão via retrocruzamento do gene de tolerância a herbicida para as cultivares parentais BRS 7 Taim e BRS Pelota. Valores de distância genética em comparações

par-a-par entre 27 amostras de arroz analisadas foram estimados pelo coeficiente SAD (*Shared Allele Distance*), que se baseia na razão entre a soma das proporções de alelos em comum entre dois acessos (Ps) para todos os locos e duas vezes o número de locos testados (BOWCOCK *et al.*, 1994; GOLDSTEIN *et al.*, 1995), seguidos do emprego do parâmetro $[(-\ln(Ps))]$ na aplicação web Genetic Distance Calculator (BRZUSTOWSKI, 2003). A matriz diagonal de distâncias genéticas foi submetida à análise de agrupamento pelo método de Neighbor-Joining, e um dendrograma de distâncias genéticas foi construído com o programa NTSYSpc versão 2.10z (ROHLF, 2002). As estimativas de conversão genética foram calculadas pela proporção de alelos da linhagem mutante doadora 93AS3510 retidos em cada uma das novas linhagens CL, com base na análise de 44 locos microssatélites distribuídos nos 12 cromossomos da espécie. Nas novas linhagens, a retenção de alelos da linhagem mutante na região do gene ALS no cromossomo 2 (KADARU *et al.*, 2008) foi desconsiderada da análise devido à seleção positiva para esta região em cada geração de retrocruzamento (RC₁ a RC₃), e seguidas autofecundações também com seleção positiva.

Estimativa das relações de vínculo genético entre acessos do Banco de Germoplasma de Arroz – Estimativas de vínculo genético entre acessos do Banco de Germoplasma foram realizadas com dois grupos de marcadores microssatélites: (a) 3 painéis multiplex desenvolvidos neste trabalho (Painéis E, H e I); (b) um conjunto de 405 marcadores aleatórios, distribuídos por todo o genoma de arroz (ANEXO 1). Os painéis e os marcadores individuais foram utilizados para a obtenção de dados genotípicos de uma amostra de 28 acessos do Banco de Germoplasma (Tabela 1; Amostra 28). O objetivo foi comparar a eficiência na avaliação das relações de vínculo genético utilizando os 3 painéis multiplex com um conjunto aproximadamente 20x maior de microssatélites distribuídos por todo o genoma da espécie. Para a definição dos genótipos em cada loco marcador, os dados de tamanho de alelos foram analisados com o algoritmo de minimização de quadrados mínimos descrito por INDURY & CARDON (1997), e implementado no software Allelobin (INDURY & CARDON, 1997). Valores de distância genética em comparações par-a-par entre os 28 acessos de arroz foram estimados com base na razão entre a soma das proporções de alelos em comum, conforme descrito anteriormente. A matriz simétrica de estimativas de similaridade genética gerada com o emprego dos painéis E, H e I foi comparada com a matriz gerada com os 405 marcadores através do teste de Mantel, normalizado através de 1000 permutações, para estimar a correlação entre matrizes simétricas pelo procedimento SIMGEND, implementado no programa NTSYSpc versão 2.10z (ROHLF, 2002).

Por fim, os oito painéis multiplex desenvolvidos neste trabalho foram empregados na avaliação das relações de vínculo genético entre 41 acessos de arroz (Amostra 41) com variabilidade genética para resistência à brusone (causada pelo fungo *Magnaporthe grisea*) e tolerância à seca e a frio, tema dos Capítulos 2 e 3 deste trabalho (Tabela 3). Os dados obtidos foram usados para estimar parâmetros genéticos para cada loco e comparar as estimativas obtidas com aquelas baseadas na genotipagem dos 28 acessos de arroz analisados inicialmente (Tabela 1; Amostra 28). Extração de DNA, reação de polimerase em cadeia, detecção alélica, genotipagem, análise de distância genética e de agrupamento seguiram procedimentos descritos anteriormente.

Tabela 3 – Acessos de arroz (Amostra 41) com variabilidade genética para resistência à brusone e tolerância à seca e ao frio, pertencentes ao Banco de Germoplasma de Arroz.

1 Ai Chiao Hong	15 Cypress	29 Ligeiro
2 Pratao	16 Arroz Maranhão	30 Arroz Periquito
3 Guan Yin Tsan Kun Min Tsieh	17 Jatoba	31 Bico Ganga Curto
4 Hunam	18 Kaw Luyoeng	32 Puteca
5 Pa Tou Hung	19 Padi Boenar	33 Go Go Lempuk
6 IR36	20 Peh Kuh Tsao Tu	34 Moroberekan
7 IR64	21 Aichi Asachi Bico Ganga Cana	35 Kassalath
8 IR8	22 Roxa	36 Chorinho
9 IRGA417	23 Catetão	37 Azucena
10 Pelita Janggut	24 Quebra Cacho	38 Binulawan
11 Amaroo	25 NPE 826	39 Carolina Gold
12 Popot 165	26 Sariceltick	40 Farroupilha
13 Rathuwee	27 Trembese	41 Zenith
14 Champa Tong	28 Cajueiro Liso	

1.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

1.4.1 Detecção de fragmentos amplificados via PCR na coleção de marcadores microssatélites distribuídos no genoma de arroz

A variedade padrão Nipponbare foi inicialmente utilizada para identificar os marcadores com produtos de PCR do tamanho esperado. Entre os 451 marcadores microssatélites testados, observou-se na grande maioria dos ensaios (441 marcadores) o tamanho esperado de produto de PCR e repetibilidade do genótipo observado. Isto indica que os critérios adotados para a seleção do conjunto inicial de 451 microssatélites para análise mostraram-se bastante eficientes (ex. composição de motivo simples e perfeita; número de repetições do motivo na cultivar padrão Nipponbare acima de seis; etc.). A Figura 2 exemplifica os genótipos da cultivar padrão Nipponbare observados nos locos RM226, RM5122 e RM307.

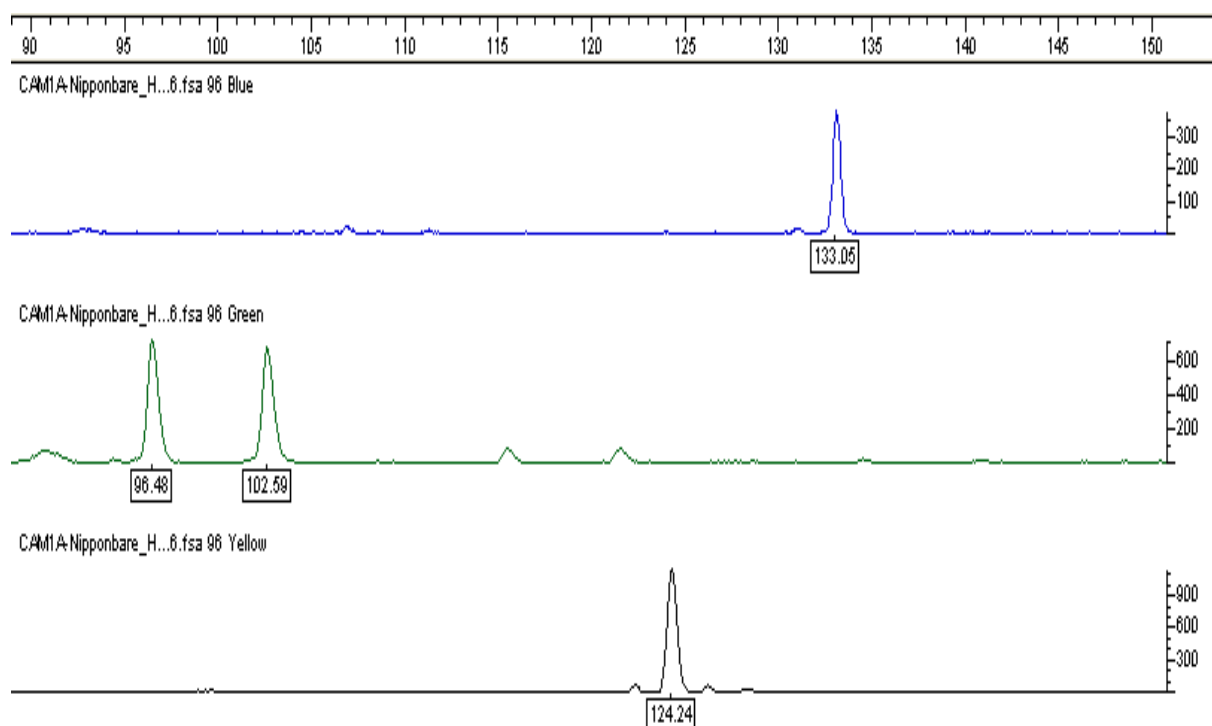


Figura 2 – Genótipos da cultivar padrão Nipponbare nos locos microssatélite RM226, RM5122 e RM307 (cromossomos 9, 2 e 4, respectivamente). A análise do produto de PCR de 451 marcadores microssatélites apresentou, na grande maioria dos ensaios, qualidade e consistência na amplificação dos fragmentos de tamanho esperado.

1.4.2 Avaliação de polimorfismo e estatísticas descritivas de uma coleção de marcadores microssatélites distribuídos no genoma de arroz

Os dados gerados na genotipagem dos 28 acessos (Tabela 1; Amostra 28) do Banco de Germoplasma, com valores arredondados de genótipos de cada um dos 441 locos microssatélites selecionados após os primeiros ensaios de PCR, são apresentados no Anexo 1. Estes dados serviram de base para a detecção de locos potencialmente úteis para o desenvolvimento de painéis multiplex de marcadores microssatélites.

As estatísticas descritivas de cada marcador permitiram selecionar os marcadores mais informativos para os testes de amplificação simultânea. Para isto, 26 dos 28 acessos de arroz (Tabela 1; Amostra 28) selecionados no Banco de Germoplasma foram utilizados para avaliar o polimorfismo e estimar parâmetros genéticos para os 441 locos microssatélites selecionados. Os dados permitiram estimar em cada loco o número de alelos (NA), a variação alélica observada (VA), a frequência alélica (FA), a diversidade gênica (DG), a heterozigosidade observada (Ho) e o conteúdo informativo de polimorfismo (PIC) (Tabela 4). Apenas 10 dos 451 marcadores não foram considerados para as estimativas de parâmetros genéticos (RM18, RM247, RM26, RM29, RM34, RM3555, RM7434, RM7501, RM7514 e RM7654) por não apresentarem dados na quantidade e qualidade suficiente para análise.

Tabela 4 – Estimativa de parâmetros genéticos de 441 locos de marcadores microssatélites distribuídos no genoma de arroz. As estimativas são baseadas em uma amostra de 26 acessos da espécie com diversidade genética e variabilidade fenotípica para características de interesse econômico (ex. tolerância à seca, tolerância ao frio).

Marcador	Alelo>freq	N°Alelos	Varição	Diversidade	Ho	PIC
			Alélica	Gênica		
ARM7110	0,28	8	138-168	0,80	0,04	0,77
<u>OG10</u>	0,28	10	80-126	0,82	0,04	0,80
OG106	0,38	13	178-246	0,82	0,00	0,81
OG12	0,24	13	174-246	0,88	0,00	0,87
OG23	0,38	10	187-239	0,81	0,00	0,80
OG26	0,50	4	98-112	0,64	0,00	0,57
OG32	0,42	5	219-235	0,69	0,00	0,64
OG43	0,54	5	77-93	0,64	0,04	0,59
<u>OG45</u>	0,33	6	221-251	0,79	0,04	0,75
<u>OG47</u>	0,96	2	201-205	0,07	0,00	0,07
OG56	0,38	7	119-137	0,75	0,17	0,71
<u>OG61</u>	0,24	10	96-104	0,85	0,00	0,83
OG63	0,57	5	102-124	0,61	0,00	0,57
OG65	0,40	8	200-240	0,69	0,04	0,64
OG66	0,26	10	131-175	0,85	0,00	0,83
OG7	0,32	6	128-162	0,79	0,00	0,76
OG72	0,23	7	116-142	0,83	0,00	0,81
OG74	0,27	7	76-136	0,82	0,38	0,80
OG78	0,29	5	57-89	0,78	0,00	0,74
OG79	0,33	5	169-198	0,75	0,00	0,70
OG81	0,42	10	70-90	0,77	0,04	0,75
OG82	0,79	3	116-122	0,34	0,00	0,31
OG84	0,94	2	118	0,11	0,04	0,10
OG86	0,96	2	115-117	0,08	0,00	0,08
OG87	0,41	5	73-151	0,68	0,00	0,63
OG92	0,28	8	96-128	0,80	0,09	0,77
OG96	0,35	6	110-128	0,73	0,15	0,68
OSR14	0,34	6	184-244	0,74	0,08	0,70
OSR15	0,64	8	106-144	0,57	0,08	0,55
OSR16	1,00	1	127	0,00	0,00	0,00
OSR19	0,32	6	103-123	0,75	0,00	0,70
OSR23	0,50	3	129-143	0,54	0,00	0,43
OSR28	0,43	6	130-176	0,70	0,00	0,65
OSR30	0,35	7	103-127	0,74	0,04	0,70
OSR34	0,44	4	126-150	0,65	0,00	0,58
OSR43	0,40	4	126-150	0,66	-	0,60
RM1	0,33	8	74-108	0,80	0,04	0,77
RM10	0,56	6	158-170	0,63	0,08	0,59
RM101	0,23	8	259-327	0,83	0,00	0,81
RM1024	0,64	3	126-138	0,51	0,00	0,44
<u>RM103</u>	1,00	1	258	0,00	0,00	0,00
<u>RM105</u>	0,56	5	127-161	0,63	0,00	0,60
RM1075	0,22	11	166-222	0,87	0,04	0,86
RM11	0,31	7	85-143	0,78	0,00	0,74

RM1135	0,42	4	139-179	0,63	0,00	0,55
RM116	0,54	3	265-279	0,59	0,04	0,51
RM1164	0,84	3	189-199	0,28	0,00	0,26
RM1183	0,38	4	132-146	0,68	0,00	0,62
RM119	0,54	3	153-171	0,60	0,00	0,53
RM120	0,54	3	154-168	0,57	0,04	0,49
RM124	0,76	4	138-202	0,39	0,00	0,37
RM1243	0,52	9	142-190	0,69	0,00	0,66
RM125	0,67	4	101-135	0,50	0,13	0,46
RM1253	0,50	3	160-170	0,54	0,00	0,43
RM1261	0,27	8	154-184	0,83	0,04	0,81
RM13	0,29	9	126-178	0,83	0,00	0,81
RM133	0,66	4	225-239	0,50	0,05	0,44
RM139	0,54	3	324-360	0,53	0,04	0,43
RM144	0,38	9	153-169	0,77	0,00	0,75
RM145	0,33	5	163-171	0,76	0,09	0,72
RM152	0,38	7	71-127	0,75	0,33	0,71
RM153	0,58	2	198-218	0,49	0,04	0,37
RM154	0,60	2	188-192	0,48	0,04	0,37
RM1553	0,46	8	128-198	0,73	0,00	0,70
RM16	0,43	5	122-186	0,67	0,00	0,61
RM161	0,92	2	165-179	0,14	0,15	0,13
RM162	0,50	8	203-241	0,65	0,04	0,60
RM164	0,22	10	246-300	0,86	0,12	0,85
RM17	0,67	5	157-197	0,50	0,04	0,45
RM171	0,60	5	322-346	0,57	0,04	0,52
RM173	0,50	2	185-209	0,50	0,00	0,38
RM178	0,63	3	114-120	0,49	0,04	0,40
RM180	0,86	3	98-184	0,25	0,04	0,23
RM181	0,50	4	264-270	0,61	0,00	0,53
RM182	0,58	4	229-249	0,57	0,00	0,50
RM184	0,85	3	202-216	0,27	0,00	0,25
RM185	0,69	2	182-194	0,43	0,00	0,34
RM187	0,50	4	137-168	0,64	0,00	0,58
RM19	0,29	6	212-246	0,76	0,00	0,72
RM1937	0,54	6	101-197	0,65	0,09	0,61
RM2	0,57	5	140-220	0,62	0,19	0,58
RM201	0,38	6	135-157	0,73	0,17	0,69
RM202	0,28	7	159-187	0,79	0,00	0,76
RM204	0,23	11	103-175	0,85	0,00	0,84
RM205	0,30	7	122-160	0,79	0,00	0,76
RM206	0,30	13	131-199	0,84	0,04	0,83
RM207	0,22	9	114-142	0,84	0,00	0,82
RM208	0,24	9	89-107	0,85	0,04	0,83
RM209	0,28	11	115-161	0,85	0,00	0,84
RM21	0,28	9	116-166	0,82	0,00	0,80
RM210	0,84	4	113-157	0,28	0,00	0,27
RM211	0,71	3	140-160	0,44	0,04	0,38
RM212	0,65	3	110-136	0,48	0,00	0,39
RM2125	0,81	4	108-140	0,33	0,04	0,31
RM214	0,46	8	112-152	0,74	0,00	0,71
RM215	0,40	6	140-152	0,72	0,04	0,68
RM217	0,87	5	129-163	0,25	0,04	0,24
RM219	0,38	7	190-232	0,76	0,00	0,73

<u>RM22</u>	0,38	5	185-196	0,74	0,00	0,70
<u>RM220</u>	0,52	5	104-148	0,59	0,04	0,52
<u>RM222</u>	0,35	8	198-226	0,80	0,00	0,78
<u>RM224</u>	0,31	8	121-157	0,80	0,04	0,77
<u>RM225</u>	0,44	5	104-141	0,63	0,04	0,56
<u>RM2255</u>	0,38	6	129-141	0,70	0,00	0,65
<u>RM226</u>	0,42	6	120-144	0,67	0,00	0,62
<u>RM229</u>	0,31	6	114-128	0,79	0,00	0,76
<u>RM231</u>	0,25	7	168-192	0,81	0,12	0,78
<u>RM232</u>	0,42	7	140-162	0,76	0,00	0,73
<u>RM233</u>	0,58	5	133-158	0,60	0,08	0,55
<u>RM234</u>	0,48	5	132-152	0,69	0,00	0,66
<u>RM235</u>	0,50	6	98-120	0,68	0,00	0,64
<u>RM238</u>	0,30	8	121-161	0,82	0,00	0,79
<u>RM239</u>	0,50	4	139-143	0,63	0,12	0,56
<u>RM24</u>	1,00	1	184	0,00	0,00	0,00
<u>RM240</u>	0,38	4	107-135	0,70	0,00	0,65
<u>RM242</u>	0,36	7	188-288	0,76	0,00	0,73
<u>RM246</u>	0,40	7	94-116	0,74	0,04	0,70
<u>RM248</u>	0,24	8	68-106	0,82	0,04	0,80
<u>RM25</u>	0,29	8	117-144	0,81	0,50	0,78
<u>RM252</u>	0,42	8	194-250	0,73	0,00	0,69
<u>RM254</u>	0,34	6	156-168	0,79	0,05	0,76
<u>RM256</u>	1,00	1	104	0,00	0,00	0,00
<u>RM259</u>	0,21	8	152-170	0,85	0,00	0,83
<u>RM261</u>	0,52	3	121-129	0,59	0,00	0,52
<u>RM263</u>	0,35	7	144-180	0,79	0,09	0,76
<u>RM269</u>	0,46	3	182-186	0,60	0,00	0,52
<u>RM27</u>	0,50	3	152-158	0,61	0,00	0,54
<u>RM270</u>	0,40	4	103-117	0,70	0,00	0,64
<u>RM271</u>	0,57	5	87-111	0,62	0,04	0,57
<u>RM273</u>	0,38	4	185-209	0,67	0,00	0,61
<u>RM274</u>	0,50	3	148-160	0,54	0,00	0,43
<u>RM277</u>	0,57	2	115-119	0,49	0,59	0,37
<u>RM282</u>	0,46	4	126-136	0,65	0,00	0,59
<u>RM283</u>	0,54	3	147-157	0,56	0,04	0,47
<u>RM284</u>	0,38	5	104-146	0,73	0,00	0,68
<u>RM2848</u>	0,88	3	261-265	0,22	0,00	0,21
<u>RM287</u>	0,42	6	94-114	0,73	0,00	0,69
<u>RM289</u>	0,58	4	86-106	0,54	0,04	0,46
<u>RM290</u>	0,42	5	86-102	0,70	0,04	0,66
<u>RM30</u>	0,48	5	97-151	0,62	0,04	0,55
<u>RM30</u>	0,52	6	97-151	0,64	0,00	0,59
<u>RM300</u>	0,28	7	104-166	0,79	0,04	0,76
<u>RM3019</u>	0,35	10	117-199	0,81	0,00	0,78
<u>RM306</u>	0,38	8	132-176	0,79	0,04	0,77
<u>RM307</u>	0,65	5	121-173	0,54	0,04	0,51
<u>RM31</u>	0,29	7	138-156	0,79	0,04	0,76
<u>RM312</u>	0,48	3	93-103	0,54	0,00	0,43
<u>RM315</u>	0,42	4	133-141	0,64	0,00	0,56
<u>RM3153</u>	0,60	7	83-181	0,60	0,29	0,57
<u>RM316</u>	0,46	8	162-200	0,70	0,17	0,66
<u>RM3226</u>	0,68	4	94-100	0,47	0,04	0,40
<u>RM3252</u>	0,22	11	153-227	0,86	0,12	0,84

RM325B	1,00	1	210	0,00	0,00	0,00
RM327	0,63	3	207-217	0,50	0,00	0,41
RM3330	0,19	8	116-144	0,86	0,04	0,84
RM3337	0,87	3	117-125	0,24	0,04	0,22
RM3334	0,61	7	143-163	0,59	0,09	0,57
RM3335	0,19	9	100-160	0,86	0,00	0,85
RM336	0,28	7	139-195	0,79	0,00	0,76
RM3362	0,48	4	123-137	0,64	0,00	0,57
RM3370	0,35	10	123-147	0,82	0,04	0,80
RM338	0,54	4	173-181	0,55	0,12	0,45
RM3404	0,34	7	177-207	0,74	0,08	0,70
RM341	0,36	5	134-170	0,71	0,00	0,65
RM3412	0,25	8	206-230	0,83	0,08	0,81
RM3428	0,31	5	137-157	0,77	0,00	0,74
RM345	0,81	3	153-167	0,33	0,00	0,30
RM3455	0,61	2	89-103	0,48	0,00	0,36
RM3461	0,28	8	127-169	0,82	0,20	0,79
RM348	0,65	3	129-139	0,48	0,00	0,39
RM349	0,42	6	117-145	0,74	0,00	0,70
RM3663	0,88	2	122-124	0,20	0,00	0,18
RM3668	0,44	5	89-109	0,71	0,00	0,67
RM3740	0,46	6	118-132	0,67	0,12	0,61
RM3769	0,57	5	92-108	0,59	0,00	0,53
RM3774	0,38	5	134-156	0,75	0,00	0,72
RM38	0,27	9	237-259	0,84	0,04	0,83
RM3808	0,29	9	115-155	0,83	0,04	0,80
RM3853	0,50	5	120-144	0,67	0,00	0,63
RM408	0,71	3	118-126	0,45	0,00	0,40
RM411	0,39	4	103-135	0,68	0,00	0,62
RM412	0,65	8	144-198	0,56	0,21	0,54
RM413	0,42	7	66-102	0,72	0,50	0,68
RM415	0,33	9	210-242	0,78	0,35	0,75
RM416	0,71	2	109-113	0,41	0,00	0,33
RM418	0,44	9	259-309	0,76	0,04	0,73
RM42	0,33	7	128-166	0,76	0,71	0,72
RM420	0,62	3	180-196	0,52	0,00	0,44
RM422	0,21	11	345-399	0,88	0,00	0,86
RM431	0,42	5	240-254	0,72	0,00	0,67
RM433	0,52	3	221-235	0,54	0,00	0,43
RM437	0,19	8	98-274	0,86	0,08	0,84
RM44	0,53	4	92-116	0,58	0,00	0,50
RM444	0,40	6	159-209	0,74	0,00	0,70
RM445	0,24	8	244-258	0,83	0,00	0,81
RM4455	0,14	14	92-161	0,91	0,00	0,90
RM447	0,48	4	104-116	0,67	0,04	0,62
RM4504	0,94	3	99-105	0,11	0,04	0,11
RM452	0,52	2	203-207	0,50	0,00	0,37
RM453	0,87	2	172-176	0,23	0,09	0,20
RM454	0,48	6	156-288	0,62	0,04	0,55
RM455	0,56	2	128-136	0,49	0,00	0,37
RM4552	0,33	8	167-209	0,79	0,21	0,77
RM456	0,75	5	97-119	0,41	0,33	0,37
RM459	0,77	2	61-65	0,36	0,07	0,29
RM474	0,22	8	224-234	0,85	0,00	0,83

RM475	0,54	5	184-284	0,64	0,00	0,59
RM477	0,52	2	217-221	0,50	0,00	0,37
RM481	0,23	12	142-218	0,87	0,04	0,85
RM484	0,50	4	289-297	0,63	0,00	0,56
RM489	0,44	4	233-283	0,63	0,00	0,56
RM495	0,52	2	146-158	0,50	0,00	0,37
RM498	0,58	4	202-218	0,58	0,04	0,52
RM5	0,48	5	94-116	0,64	0,04	0,58
RM500	0,35	5	242-260	0,75	0,04	0,71
RM505	0,41	6	177-205	0,72	0,05	0,68
RM5055	0,58	8	102-150	0,64	0,00	0,61
RM507	1,00	1	127	0,00	0,00	0,00
RM510	0,35	6	107-121	0,76	0,17	0,73
RM514	0,44	7	238-266	0,73	0,04	0,70
RM533	0,34	6	248-260	0,75	0,04	0,71
RM534	0,94	3	144-164	0,12	0,04	0,12
RM5349	0,42	6	106-132	0,74	0,04	0,70
RM5352	0,37	6	158-184	0,76	0,22	0,72
RM5353	0,73	5	129-191	0,45	0,00	0,43
RM5359	0,58	4	185-199	0,60	0,08	0,55
RM536	0,24	7	222-244	0,82	0,00	0,79
RM5414	0,38	6	92-114	0,72	0,00	0,67
RM55	0,38	6	216-236	0,74	0,00	0,69
RM552	0,37	8	171-219	0,76	0,42	0,73
RM5551	0,20	10	106-140	0,87	0,04	0,86
RM5599	0,58	3	121-143	0,57	0,00	0,50
RM560	0,62	6	233-266	0,57	0,04	0,54
RM561	0,54	3	185-191	0,56	0,00	0,47
RM5626	0,60	4	86-100	0,57	0,08	0,51
RM5638	0,29	7	197-237	0,80	0,35	0,77
RM567	0,44	6	233-255	0,70	0,00	0,66
RM568	0,23	11	219-291	0,88	0,18	0,87
RM5687	0,21	9	142-213	0,86	0,00	0,84
RM569	0,53	5	137-197	0,66	0,00	0,63
RM570	0,14	9	204-282	0,88	0,00	0,86
RM574	0,40	7	146-188	0,74	0,08	0,70
RM591	0,18	15	82-282	0,91	0,00	0,91
RM5919	0,19	9	144-282	0,86	0,00	0,84
RM592	0,14	12	214-304	0,90	0,00	0,89
RM5951	0,79	2	75-87	0,33	0,08	0,28
RM5957	0,96	2	184-194	0,07	0,00	0,07
RM6024	0,60	2	166-178	0,48	0,00	0,36
RM6075	0,74	3	127-139	0,40	0,44	0,35
RM6119	0,47	8	125-199	0,73	0,00	0,70
RM6251	0,77	4	112-118	0,38	0,13	0,34
RM6314	0,37	6	139-171	0,76	0,04	0,73
RM6370	0,88	3	59-86	0,23	0,00	0,21
RM6535	0,96	2	128-132	0,08	0,08	0,07
RM6570	0,58	2	109-121	0,49	0,00	0,37
RM6643	1,00	1	142	0,00	0,00	0,00
RM6810	0,36	4	61-73	0,69	0,04	0,62
RM6822	0,44	3	102-122	0,62	0,00	0,54
RM6863	0,41	4	174-190	0,68	0,00	0,61
RM6881	0,86	3	63-79	0,25	0,00	0,24

RM6923	1,00	1	157	0,00	0,00	0,00
RM6925	0,45	9	126-237	0,75	0,00	0,73
RM7	0,27	6	166-180	0,78	0,42	0,74
RM7012	1,00	1	86	0,00	0,00	0,00
RM7018	0,32	5	118-192	0,74	0,28	0,70
RM7023	0,58	4	169-195	0,57	0,00	0,50
RM7027	0,41	4	72-84	0,66	0,61	0,59
RM7033	0,67	2	115-135	0,44	0,00	0,35
RM7034	0,80	3	65-123	0,33	0,08	0,30
RM7038	0,52	2	145-149	0,50	0,00	0,37
RM7049	0,54	5	137-167	0,62	0,00	0,57
RM7057	0,88	3	158-176	0,22	0,00	0,21
RM7074	0,45	4	145-165	0,64	0,00	0,58
RM7075	0,25	8	99-163	0,83	0,04	0,80
RM7076	0,64	5	190-214	0,56	0,00	0,53
RM7080	0,46	4	105-147	0,68	0,00	0,63
RM7081	0,50	3	80-92	0,54	0,00	0,43
RM7086	0,54	3	126-166	0,53	0,00	0,43
RM7087	0,92	2	99-113	0,15	0,00	0,14
RM71	0,52	4	74-148	0,62	0,04	0,55
RM7102	0,40	6	71-187	0,76	0,00	0,72
RM7110	0,29	6	163-191	0,78	0,04	0,75
RM7113	0,39	9	156-256	0,78	0,18	0,76
RM7117	0,69	4	123-155	0,47	0,13	0,42
RM7119	0,67	4	104-142	0,48	0,58	0,41
RM7120	0,84	2	148-158	0,27	0,00	0,23
<u>RM7124</u>	0,46	6	142-170	0,69	0,91	0,65
RM7153	0,50	4	139-161	0,57	0,00	0,48
RM7158	0,28	9	135-198	0,82	0,09	0,80
RM7161	0,55	4	143-151	0,63	0,00	0,59
RM7163	1,00	1	142	0,00	0,00	0,00
RM7170	0,76	2	151-179	0,36	0,00	0,30
RM7173	0,94	2	105-117	0,11	0,04	0,10
RM7181	0,92	3	141-161	0,14	0,00	0,14
RM7196	0,52	4	71-151	0,64	0,22	0,59
<u>RM7200</u>	0,31	8	153-193	0,80	0,00	0,77
RM7202	0,88	2	150-154	0,22	0,00	0,19
RM7203	0,60	5	85-105	0,54	0,08	0,46
RM7205	0,62	4	172-208	0,55	0,04	0,50
RM7208	0,38	7	104-186	0,74	0,12	0,70
RM7210	0,46	8	82-126	0,74	0,04	0,72
RM7212	0,40	7	123-169	0,71	0,04	0,66
RM7213	0,28	8	186-230	0,79	0,12	0,76
<u>RM7215</u>	0,70	6	86-128	0,49	0,04	0,47
RM7217	0,64	2	165-169	0,46	0,00	0,36
RM7221	0,50	4	133-183	0,61	0,16	0,54
<u>RM7226</u>	0,29	7	149-179	0,77	0,08	0,74
RM7228	0,47	6	190-232	0,72	0,00	0,69
RM7237	0,25	9	141-161	0,83	0,85	0,81
RM7266	0,50	5	171-209	0,64	0,68	0,59
RM7267	0,38	6	115-185	0,75	0,00	0,71
RM7269	0,48	6	135-155	0,66	0,05	0,60
RM7271	0,98	2	133-136	0,04	0,04	0,04
RM7272	0,46	6	126-192	0,71	0,04	0,67

RM7273	0,40	6	137-185	0,68	0,04	0,63
RM7275	0,47	4	184-220	0,68	0,00	0,63
RM7276	0,61	6	110-150	0,57	0,61	0,53
RM7277	0,80	4	102-198	0,35	0,00	0,33
RM7278	0,48	8	150-238	0,72	0,04	0,69
RM7279	0,26	9	173-215	0,84	0,05	0,82
RM7283	0,27	12	129-199	0,86	0,29	0,85
RM7285	0,37	7	151-181	0,78	0,31	0,75
RM7286	0,46	9	80-146	0,75	0,00	0,73
RM7288	0,48	5	128-180	0,61	0,00	0,54
RM7289	0,33	11	128-214	0,82	0,04	0,80
RM7290	0,64	4	127-155	0,52	0,09	0,45
RM7300	0,56	2	92-108	0,49	0,04	0,37
RM7303	0,98	2	126-128	0,04	0,04	0,04
RM7306	0,31	6	134-158	0,73	0,00	0,69
RM7307	0,55	3	97-102	0,55	0,14	0,46
RM7309	0,68	2	148-152	0,43	0,00	0,34
RM7315	0,54	2	172-184	0,50	0,04	0,37
RM7329	0,58	7	156-226	0,63	0,05	0,61
RM7332	0,50	7	123-195	0,66	0,00	0,61
RM7338	0,40	3	139-163	0,65	0,00	0,58
RM7343	0,52	2	88-92	0,50	0,04	0,37
RM7355	0,75	2	183-193	0,38	0,00	0,30
RM7363	0,36	7	81-149	0,76	0,00	0,73
RM7364	0,44	5	191-223	0,67	0,04	0,61
RM7365	0,44	6	152-180	0,71	0,12	0,66
RM7373	0,98	2	133-141	0,04	0,04	0,04
RM7383	0,36	3	154-174	0,66	0,08	0,59
RM7389	0,73	2	105-109	0,39	0,00	0,31
RM7390	0,60	5	129-159	0,57	0,13	0,52
RM7391	0,50	4	145-229	0,64	0,04	0,58
RM7399	0,65	3	161-197	0,47	0,08	0,38
RM7400	0,50	2	122-126	0,50	0,00	0,38
RM7405	0,70	2	93-109	0,42	0,00	0,33
RM7410	0,87	3	88-154	0,23	0,00	0,22
RM7411	0,56	2	183-199	0,49	0,00	0,37
RM7418	0,73	3	74-86	0,42	0,00	0,37
RM7423	0,80	4	180-202	0,33	0,08	0,30
RM7425	0,90	2	176-188	0,18	0,04	0,16
RM7431	0,58	4	134-148	0,57	0,00	0,50
RM7441	0,60	4	188-200	0,54	0,04	0,47
RM7444	0,58	2	145-151	0,49	0,00	0,37
RM7446	0,69	4	150-208	0,49	0,04	0,46
RM7448	0,93	2	192-196	0,12	0,00	0,12
RM7451	0,63	6	143-165	0,57	0,08	0,54
RM7452	0,76	5	83-97	0,40	0,20	0,38
RM7453	0,44	5	153-189	0,66	0,13	0,60
RM7454	0,68	2	95-103	0,43	0,00	0,34
RM7463	0,54	3	185-217	0,59	0,00	0,52
RM7472	0,32	7	74-104	0,78	0,00	0,74
RM7474	0,27	6	103-159	0,82	0,00	0,79
RM7479	0,45	6	155-197	0,70	0,09	0,66
RM7492	0,50	7	121-159	0,67	0,15	0,62
RM7504	0,40	6	223-247	0,74	0,00	0,71

RM7511	0,23	11	157-247	0,86	0,04	0,84
RM7536	0,88	3	94-102	0,22	0,08	0,21
RM7551	1,00	1	146-150	0,00	0,00	0,00
RM7555	0,52	3	75-115	0,56	0,00	0,47
RM7556	0,52	3	107-127	0,56	0,04	0,47
RM7557	0,68	3	171-181	0,46	0,09	0,39
RM7558	0,54	3	141-149	0,53	0,00	0,42
RM7575	0,44	4	185-221	0,67	0,00	0,61
RM7576	0,42	6	205-249	0,70	0,00	0,65
RM7579	0,96	2	114-120	0,07	0,00	0,07
RM7580	0,50	5	191-211	0,65	0,00	0,60
RM7581	0,44	7	125-241	0,74	0,04	0,71
RM7583	0,76	2	330-334	0,36	0,30	0,30
RM7585	0,42	3	93-153	0,64	0,00	0,56
RM7600	0,52	4	92-100	0,64	0,72	0,59
RM7619	0,48	6	148-194	0,69	0,42	0,65
RM7624	0,91	4	101-185	0,16	0,09	0,16
RM7636	0,76	2	154-166	0,36	0,00	0,30
RM7650	0,98	2	113-117	0,04	0,04	0,04
RM7652	0,40	9	210-278	0,74	0,28	0,70
RM7653	0,75	2	103-121	0,38	0,04	0,30
RM7654	0,52	4	170-220	0,60	0,00	0,53
RM8	0,42	4	289-297	0,70	0,00	0,65
RM80	0,25	10	99-145	0,86	0,00	0,84
RM81	0,35	5	99-119	0,75	0,15	0,71
RM84	0,50	6	106-124	0,65	0,14	0,60
RM9	0,25	7	125-191	0,81	0,04	0,79
ADP-glucose-SS.A1	0,50	7	140-170	0,64	0,12	0,58
ADP-glucose-SS.A2	0,25	12	197-367	0,87	0,00	0,86
ADP-glucose-SS.A3	0,42	4	245-249	0,62	0,04	0,55
ADP- glucose-LS.B2	0,20	13	219-294	0,90	0,04	0,89
ADP- glucose-LS.B3	0,25	13	222-289	0,89	0,00	0,88
ADP- glucose-LS.B4	0,21	8	215-235	0,86	0,00	0,84
CADP-glucose-SS.C4	0,44	5	184-192	0,67	0,12	0,61
DBE-Isomilase.D1	0,42	5	203-229	0,65	0,04	0,58
DBE-Isomilase.D3	0,38	8	142-163	0,76	0,52	0,73
DBE-Pullulanase.E1	0,85	2	243-246	0,26	0,00	0,23
DBE-Pullulanase.E2	0,46	7	222-248	0,71	0,33	0,67
DBE-Pullulanase.E3	0,44	8	161-182	0,73	0,23	0,70
DBE-Pullulanase.E4	0,25	11	174-230	0,85	0,08	0,83
Waxy.F2	0,96	2	228-230	0,07	0,00	0,07
Waxy.F3	0,35	7	223-247	0,76	0,00	0,73
Waxy.F4	0,54	6	229-239	0,63	0,38	0,58
SBE-1.G2	0,62	7	207-247	0,59	0,04	0,56
SBE-1.G3	0,44	4	147-153	0,62	0,04	0,54
SBE-1.G4	0,28	6	179-193	0,79	0,35	0,76
SBE-2a/SBE-4.H2	0,52	6	175-191	0,65	0,20	0,60
SBE-2a/SBE-4.H3	0,54	4	163-173	0,63	0,00	0,58
SBE-2a/SBE-4.H4	0,65	2	213-215	0,45	0,00	0,35
SBE-2b/SBE-3.I2	0,53	7	158-189	0,62	0,27	0,56
SBE-2b/SBE-3.I3	0,62	3	217-245	0,54	0,00	0,47
SBE-2b/SBE-3.I4	0,29	7	231-249	0,79	0,14	0,76
SSII-2.J1	0,31	9	234-254	0,83	0,50	0,81
SSII-2.J2	0,69	4	232-234	0,46	0,08	0,41

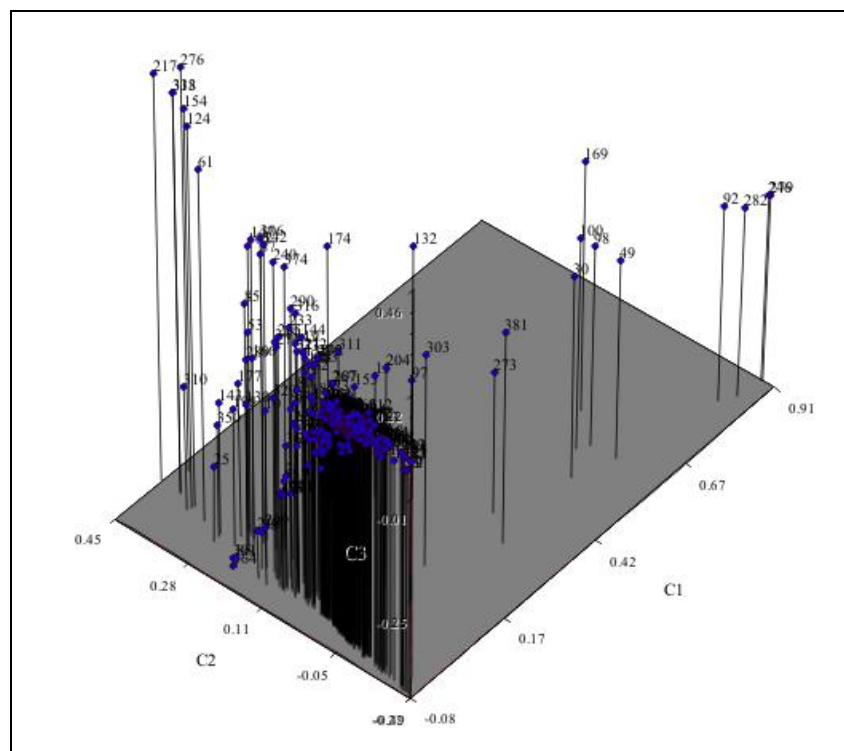
SSII-2.J3	0,38	7	243-255	0,73	0,27	0,69
SSII-2.J4	0,46	5	225-233	0,69	0,12	0,64
SSII-3.L1	0,44	6	153-175	0,67	0,54	0,62
SSII-3.L2	0,23	15	149-228	0,88	0,27	0,87
SSII-3.L3	0,48	7	189-213	0,64	0,96	0,58
SSII-3.L4	0,46	7	195-227	0,71	0,16	0,67
Media	0,51	5,30		0,60	0,07	0,46

Os locos OSR16, RM103, RM24, RM256, RM325B, RM507, RM6643, RM6923, RM7012, RM7163 e RM7551 não apresentaram polimorfismo na amostra de 26 dos 28 acessos utilizada na avaliação (Tabela 1). Cinquenta locos apresentaram apenas dois alelos, alguns com frequência próxima de 0,50 (ex: RM173, RM7315, RM277), outros com um dos alelos com alta frequência (ex: RM7579, RM7271). Outros locos apresentaram um grande número de alelos, até o máximo de 15 alelos por loco (SSII-3-L2). O número médio de alelos por loco foi 5,3. O alelo com maior frequência apresentou valores médios em torno de 0,51, o que é interessante para um marcador molecular. Valores médios de Diversidade Gênica (0,60) e de PIC (0,46) indicam que a maioria dos marcadores testados pode ser eficientemente utilizada em estudos genéticos. De fato, entre os 441 marcadores microssatélites com parâmetros genéticos estimados, um total de 362 (82%) possui três ou mais alelos. Entre estes, 325 (74,37%) apresentam PIC acima de 0,40%.

Os marcadores monomórficos e os menos informativos de todo o conjunto foram descartados para a composição dos painéis multiplexes. Inicialmente, os marcadores que apresentaram valores de conteúdo de informação de polimorfismo (PIC) e de Diversidade Gênica acima de 0,70 foram prioritariamente considerados para compor os painéis multiplex. Entre eles destacam-se os seguintes marcadores, com os respectivos PICs: RM28 (0,83), RM235 (0,64), RM481 (0,85), RM222 (0,78), RM415 (0,75), RM7226 (0,75), OG45 (0,75), RM7504 (0,70), OG61 (0,83), RM336 (0,76), RM22 (0,70), RM19 (0,72), RM592 (0,89), RM422 (0,86), RM300 (0,76), RM720 (0,77), RM418 (0,73) e waxy F3 (0,73). Estes marcadores foram os primeiros a serem testados para a composição dos painéis multiplex.

Para avaliar os marcadores microssatélites mais informativos, também foi realizada uma análise de coordenadas principais (*Principal Coordinate Analysis*) da matriz de genótipos de 405 marcadores microssatélites testados em 28 acessos da Coleção de Germoplasma (Figura 3).

(a)



(b)

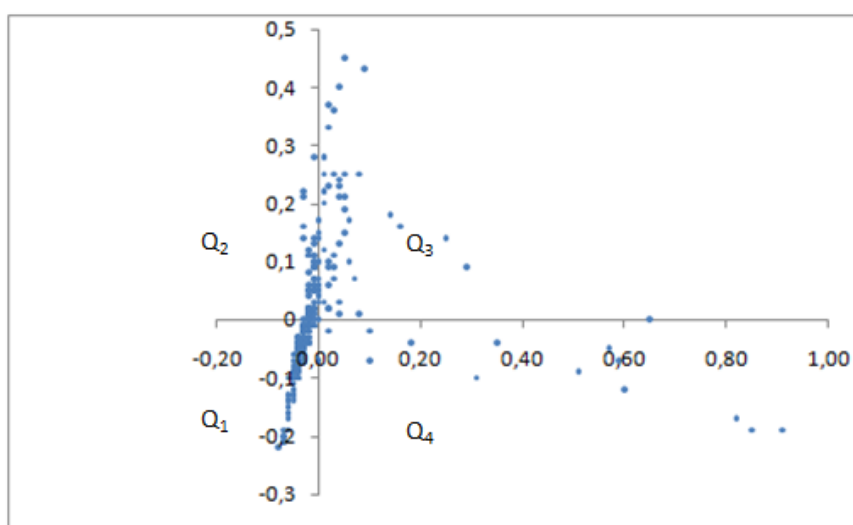


Figura 3 – (a) Análise de coordenadas principais de 405 marcadores microsatélites de arroz utilizados para genotipar amostras do Banco de Germoplasma de Arroz (Amostra 28). Valores de autovetores dos eixos X, Y e Z são apresentados para cada marcador; (b) Plotagem dos valores de autovetores nos eixos X e Y.

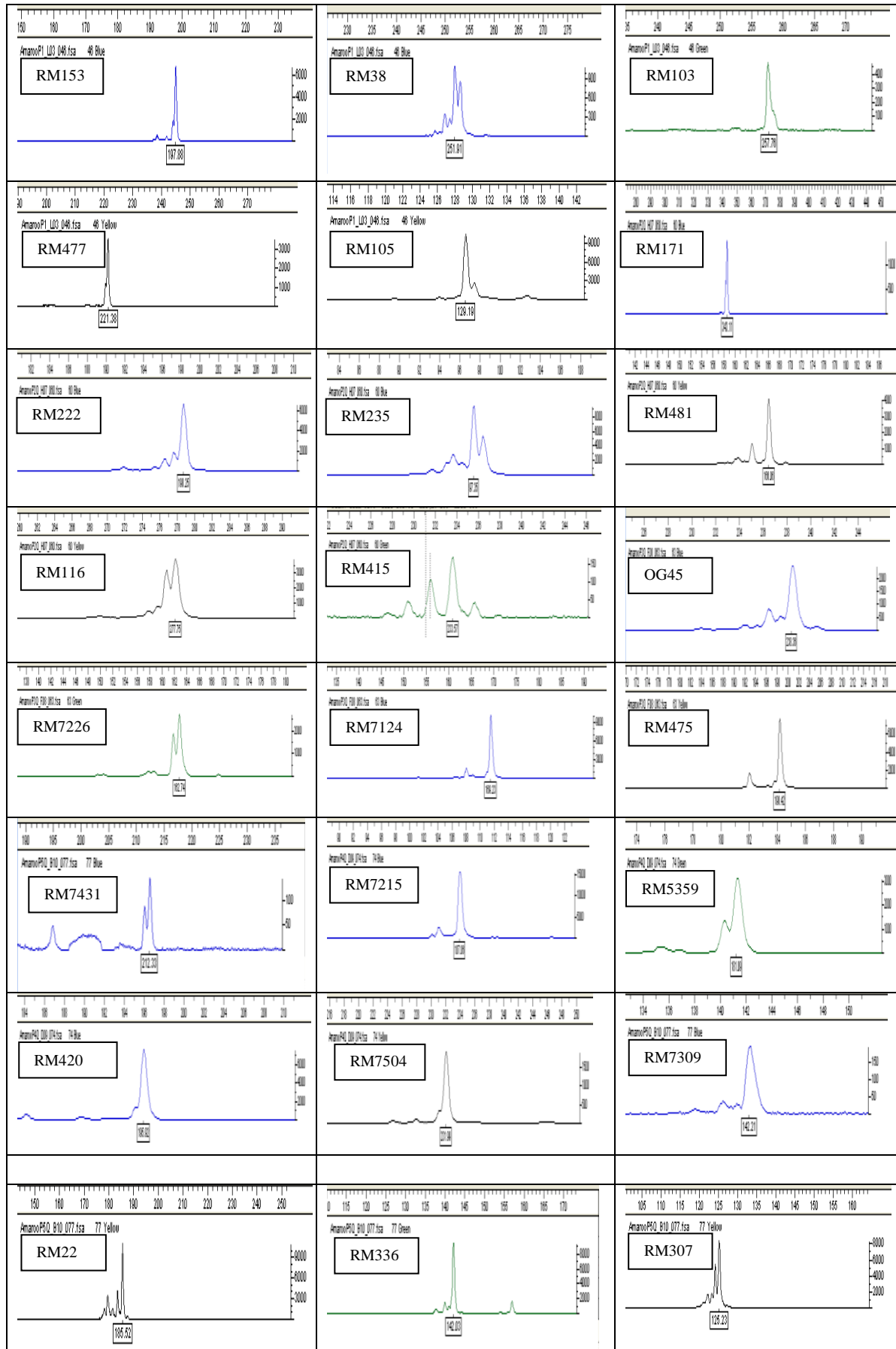
No eixo X (C1 – primeiro componente) (Figura 3a), observa-se que os marcadores formam um grande grupo (esquerda), indicando que os marcadores testados apresentam, em sua maioria, nível de informação similar. Neste grupo, incluem-se

marcadores como 303 (RM7283, PIC= 0,87), 174 (RM3774, PIC= 0,72), 152 (RM3330, PIC= 0,85), 204 (RM2481, PIC= 0,84) . Já no extremo direito do eixo X, observa-se os marcadores mais divergentes deste grupo e com baixo PIC, como os marcadores 282 (RM7181, PIC= 0,12) e 92 (RM217, PIC= 0,27). Ao longo do eixo X, na porção intermediária, os marcadores 98 (RM225, PIC= 0,57), 100 (RM226, PIC= 0,58), 30(OSR23, PIC= 0,50) e 273 (RM7119, PIC= 0,68), entre outros, apresentam valores intermediários de PIC entre os dois grupos anteriores. A plotagem dos valores de projeção dos eixos X e Y (Figura 2b) indica que os marcadores mais informativos são observados no quadrante 1 ($Q_1, PIC_{\text{médio}} = 0,59$) em detrimento do quadrante 4 ($Q_4, PIC_{\text{médio}} = 0,53$). Os demais quadrantes (Q_2 e Q_3) apresentam valores de $PIC_{\text{médio}}$ intermediários (0,55 e 0,57, respectivamente).

Observou-se que os marcadores RM6643 e RM7163, RM225 e RM226, e OSR16 e RM507, respectivamente, possuem genótipo multiloco idêntico nos 28 acessos de arroz genotipados. Estes foram os únicos casos detectados entre centenas de marcadores testados. Nestes casos, apesar de cada par de marcadores representar locos localizados em regiões distintas do genoma (ANEXO 1), é provável que algum erro de identificação tenha ocorrido no processo de desenvolvimento dos marcadores.

Os locos com repetições de dinucleotídeo apresentam uma média de alelos maior dos aqueles com repetição de tri e de tetranucleotídeos (di= 6,70 alelos; tri= 5,88 alelos; tetra= 4,81 alelos). Há uma correlação significativa e negativa ($r=-0,21$; valor $p<0,01$) de diminuição no número de alelos por loco microssatélite à medida em que o tamanho da repetição aumenta.

Estes dados levaram à seleção de 41 marcadores microssatélites (aproximadamente 10% do total avaliado) para testes de desenvolvimento de painéis multiplex (Tabela 4, sublinhados). A Figura 4 ilustra o genótipo de cultivares de arroz nos 41 locos microssatélites selecionados, confirmando o tamanho esperado dos alelos em cada um dos locos.



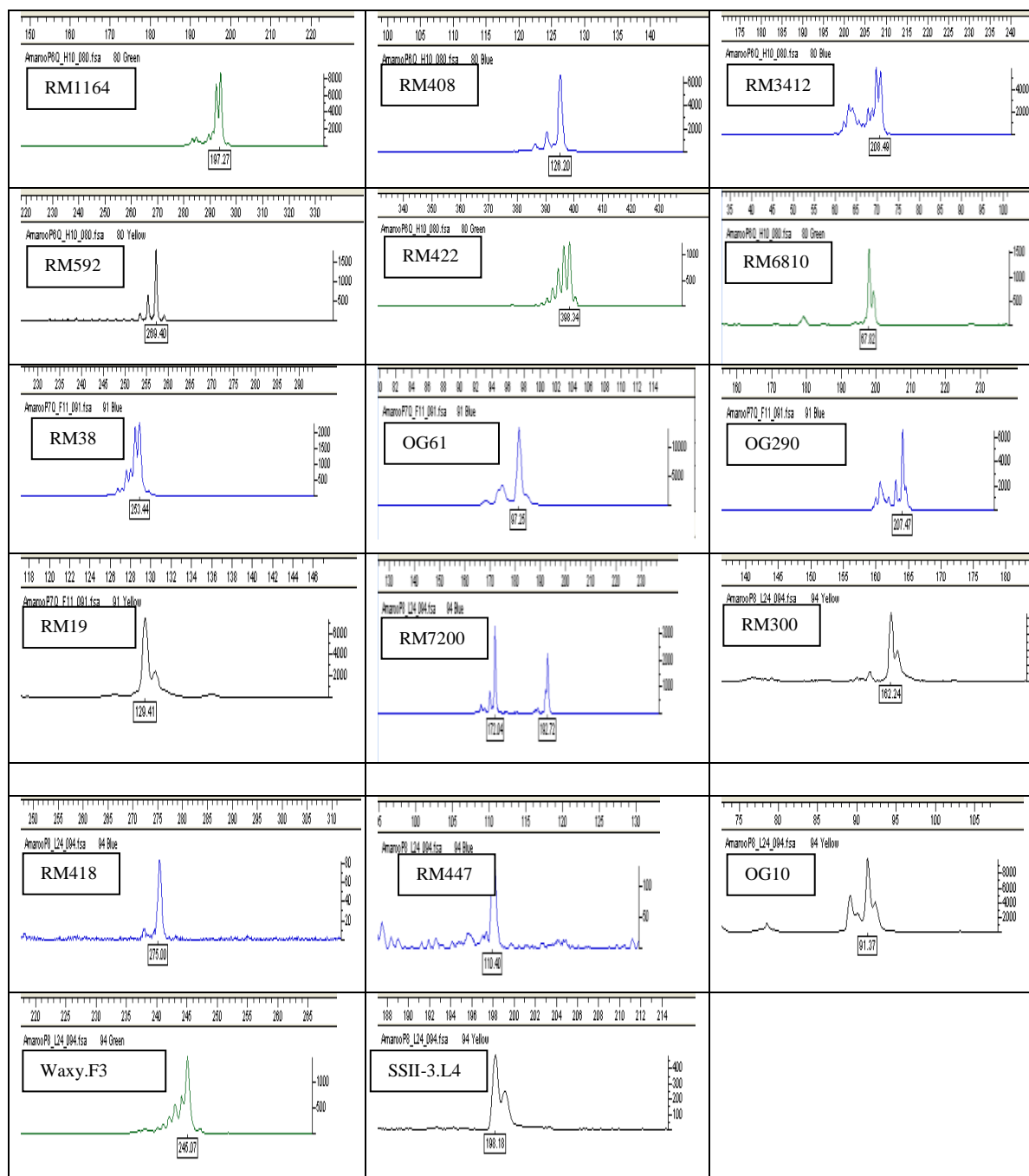


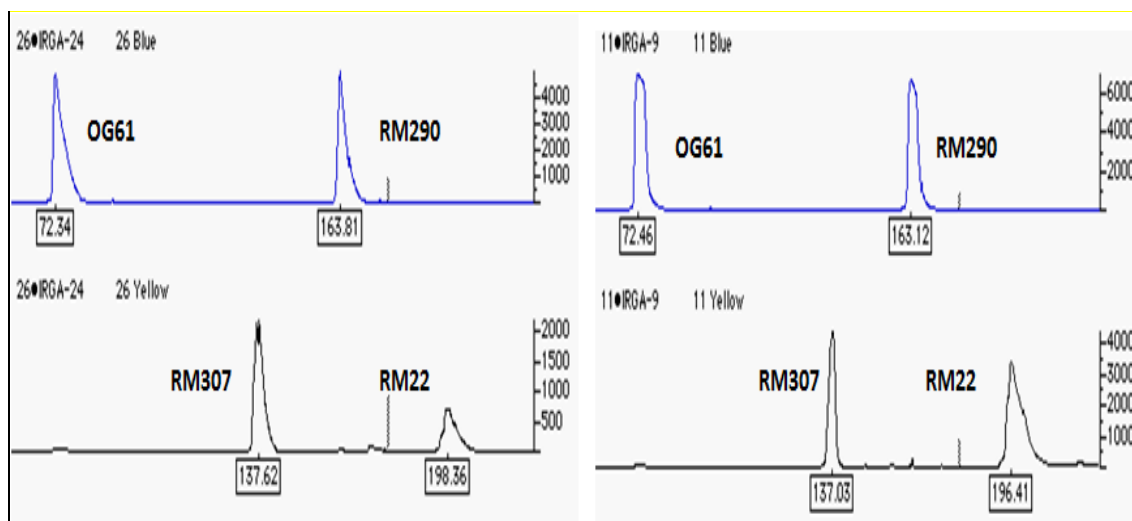
Figura 4 - Ensaios de PCR com 41 marcadores microssatélites selecionados para o desenvolvimento de painéis de amplificação simultânea de alelos em locos distintos. DNA extraído de cultivares de arroz foi utilizado em reações com cada um dos marcadores individualmente, confirmando o tamanho esperado do produto de PCR em cada loco.

1.4.3 Desenvolvimento de painéis multiplex de marcadores microssatélites

A possibilidade de combinação das fluorescências marcadas nos iniciadores com base na amplitude de variação alélica de cada loco, o motivo da seqüência repetitiva de cada loco e a posição do loco no genoma foram em seguida considerados para selecionar marcadores para compor os painéis multiplex.

Em cada painel multiplex testado buscou-se a inclusão do maior número possível de marcadores localizados em cromossomos distintos. Foram testadas várias combinações dos marcadores, sempre tentando maximizar o maior número de marcadores por painel. O fluorocromo utilizado para a marcação dos iniciadores de PCR serviu de referência para combinar marcadores com variação alélica na mesma faixa de tamanho. Buscou-se, por fim, a inclusão de um mesmo marcador (controle) em cada painel, repetido nos demais, para garantir a eficiência e minimizar o erro humano.

Os testes de várias combinações de marcadores por painel foram realizados comparando a performance de cada painel utilizando o kit QIAGEN[®] Multiplexer PCR e ensaios “caseiros” (soluções preparadas no laboratório). Os resultados com o kit QIAGEN[®] foram considerados superiores em qualidade, além de apresentar menor tempo preparação da PCR, eletroferogramas mais claros e com menor frequência de *stuttering* e, principalmente, menor índice de falha de amplificação de alelos em locos de marcadores, especialmente quando o multiplex apresentava um maior número de marcadores microssatélites (Figura 5).



(a)

(b)

Figura 5 - (a) Painel pentaplex com reação de PCR baseada em soluções preparadas no laboratório (“caseira”) usado na genotipagem da cultivar padrão Nipponbare; (b) O mesmo painel usado na genotipagem da cultivar padrão Nipponbare, mas com protocolo baseado no kit QIAGEN® Multiplexer PCR.

Os marcadores mais informativos foram selecionados para compor os primeiros painéis multiplex. Entre estes destacaram-se os 41 marcadores mencionados anteriormente (Tabela 4, sublinhados; Figura 4). Oito combinações de marcadores para a formação de painéis multiplex apresentaram consistência, robustez e grau de informatividade adequado para avaliação de polimorfismo e estudos genéticos de arroz. Estes oito painéis foram denominados D, E, F, G, H, I, N e O (Tabela 5). Os painéis de microssatélites são assim constituídos: seis locos nos painéis D, F, G e I, sete locos nos painéis E e H; oito locos no painel N e de 12 locos no painel O, que são formados por microssatélites com motivos de di, tri e tetranucleotídeos. O conjunto dos oito painéis contém 14 locos com motivo de tetranucleotídeos, 13 de trinucleotídeos, um loco complexo de dinucleotídeo/dinucleotídeo, um loco complexo (di-tri) e 14 locos de dinucleotídeos perfeitos (Figura 6). O painel N contém dois locos (*SSII-3.L4* e *Waxy-F3*) associados à qualidade de grãos de arroz (Lacerda, 2009), formados por repetições de dinucleotídeos.

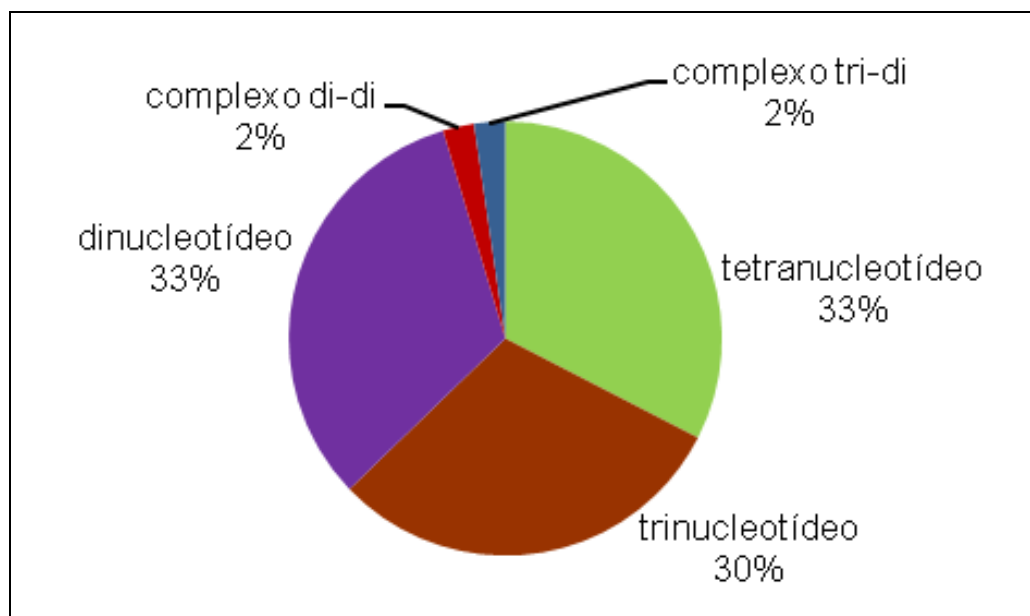


Figura 6 - Composição dos motivos dos 41 marcadores microssatélites selecionados para desenvolver os painéis multiplex D, E, F, G, H, I, N, O.

Deve ser observado que os 12 marcadores contidos no Painel O são encontrados nos demais painéis. Contudo, o marcador RM490 pode ser usado em substituição ao RM415, tornando-se exclusivo deste painel. O loco RM6810 está presente em todos os painéis, aumentando a confiabilidade nos dados gerados por ampliações distintas e minimizando a possibilidade de erro humano. As informações de fluorescência marcada, posição genômica, amplitude alélica, número de alelos observados e o motivo das repetições dos marcadores em cada um dos painéis desenvolvidos são apresentados na Tabela 5.

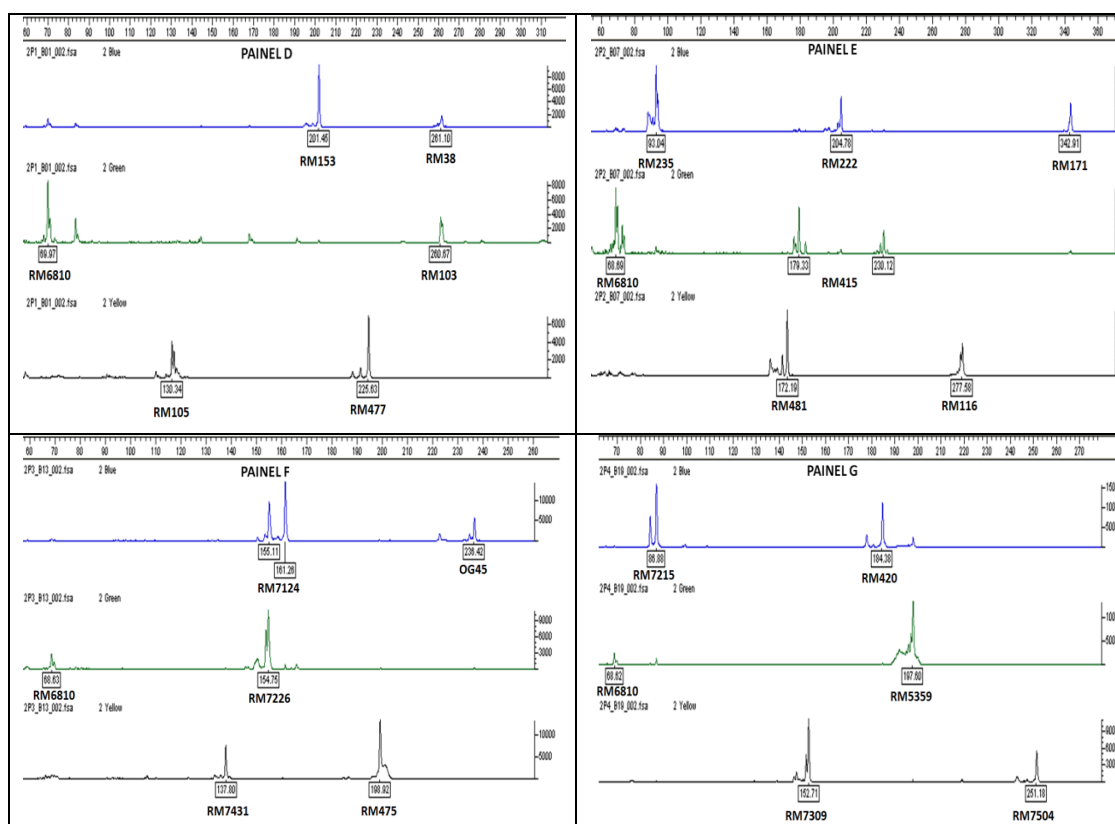
Tabela 5 – Os painéis D, E, F, G, H, M, N e O combinam 41 locos microssatélites marcados com os fluorocromos 6-FAM, HEX e NED, e distribuídos em 12 cromossomos de arroz. O painel O apresenta locos em comum com os demais painéis.

Painel	Loco	Fluorocromo	Cromossomo	Varição alélica	Nº alelos	Motivo
D	RM6810	hex	7	61-98	5	TCT
D	RM105	ned	9q	130-137	5	CCT
D	RM153	6-fam	5p	198-219	4	GGA
D	RM477	ned	8q	217-221	3	AATT
D	RM38	6-fam	8p	237-257	10	GA
D	RM103	hex	6q	250-260	5	GAA
E	RM6810	hex	7	61-98	5	TCT

E	RM235	6-fam	12q	98-138	7	CT
E	RM481	ned	7p	148-202	13	CAA
E	RM222	6-fam	10p	198-222	8	CT
E	RM415	hex	12p	210-240	13	AT
E	RM116	ned	11p	276-280	5	CT
E	RM171	6-fam	10q	327-343	6	GATG
F	<u>RM6810</u>	hex	7	61-98	5	TCT
F	RM7431	ned	3	138-150	4	GTAC
F	RM7124	6-fam	1	147-170	8	ATAA
F	RM7226	hex	11	151-179	8	ATAG
F	RM475	ned	2	183-199	5	AATT
F	OG45	fam	9	222-242	8	AG
G	<u>RM6810</u>	hex	7	61-98	5	TCT
G	RM7215	6-fam	2	87-107	7	ATAG
G	RM7309	ned	6	148-152	3	ATTT
G	RM420	6-fam	7	180-192	4	AAAT
G	RM5359	hex	1	191-199	8	ATCT
G	RM7504	ned	N.M.	223-247	6	TATC
H	<u>RM6810</u>	hex	7	61-98	5	TCT
H	OG61	6-fam	6	96-150	11	AG
H	RM307	ned	4	122-128	6	(AT)(GT)
H	RM336	hex	7	148-166	7	CTT
H	RM290	6-fam	2	142-178	5	GA
H	RM22	ned	3	185-195	5	GA
H	RM19	6-fam	12	212-244	6	ATC
I	<u>RM6810</u>	hex	7	61-98	5	TCT
I	RM408	6-fam	8	118-126	3	CT
I	RM1164	hex	3	190-196	4	AG
I	RM3412	6-fam	1	209-225	10	CT
I	RM592	ned	5	230-302	12	ATT
I	RM422	hex	3	345-399	13	AG
N	<u>RM6810</u>	hex	7	61-98	5	TCT
N	OG10	ned	9	94-122	6	(CAT)(CT)
N	RM447	6-fam	5p	104-119	6	GGA
N	RM300	ned	2	124-166	7	GTT
N	RM7200	6-fam	4	150-190	8	ATAG
N	L4	ned	6	199-227	8	tetra
N	F3	hex	6	223-245	9	di
N	RM418	fam	7	276-309	10	ATT

O	RM6810	hex	7	61-98	5	TCT
O	RM235	6-fam	12q	98-138	7	CT
O	RM105	ned	9q	130-137	5	CCT
O	RM336	hex	7	148-166	7	CTT
O	RM22	ned	3	185-195	5	GA
O	RM3412	6-fam	1	209-225	10	CT
O	RM415	hex	12p	210-240	13	AT
O	RM38	fam	8	237-257	10	GA
O	RM116	ned	11p	276-280	5	CT
O	RM418	6-fam	7	276-306	9	ATT
O	RM171	6-fam	10q	327-343	6	GATG
O	RM422	hex	3	345-399	13	AG

A Figura 7 ilustra a genotipagem da cultivar padrão Nipponbare com os painéis multiplex D, E, F, G, H, M, N, O.



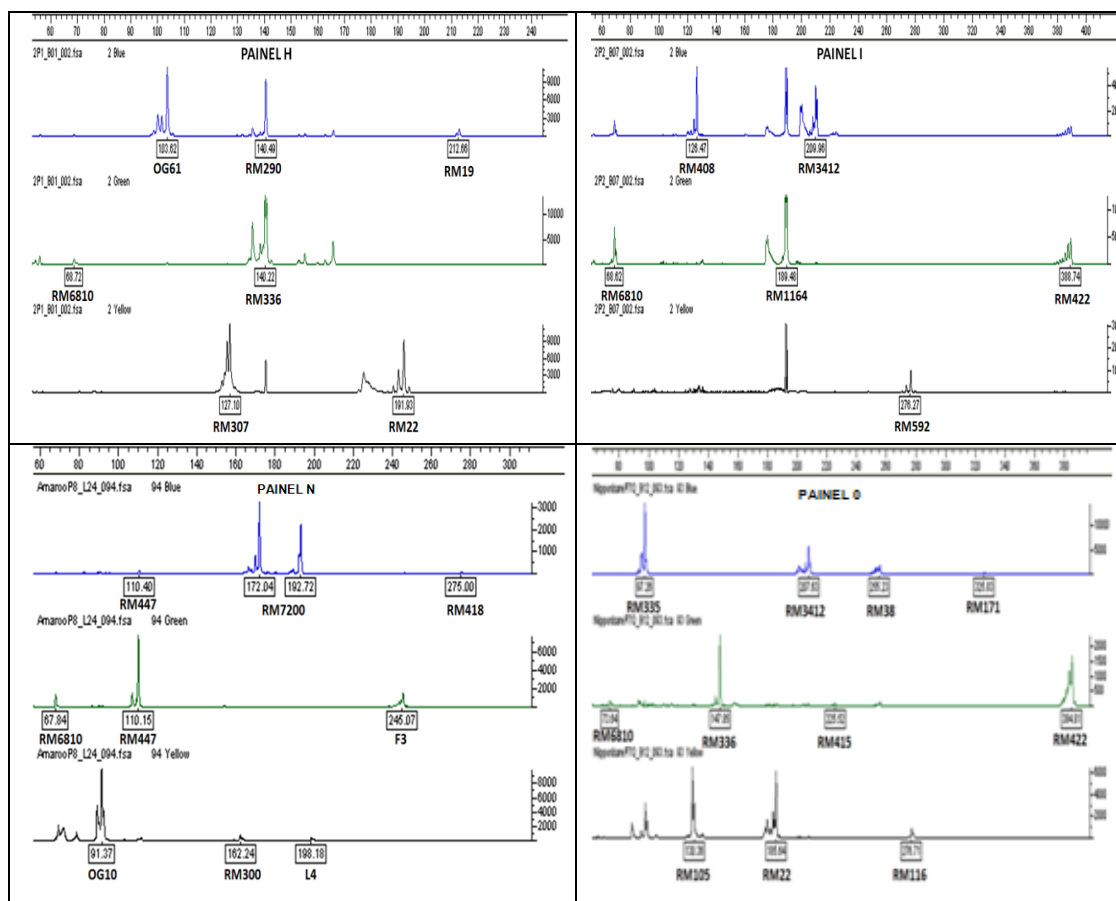


Figura 7 – Genotipagem de cultivares de arroz com painéis multiplex de marcadores microssatélites (Painéis D, E, F, G, H, I, N, O).

1.4.4 Avaliação do conteúdo informativo dos painéis multiplex de marcadores microssatélites

Os oito painéis compostos por 41 locos combinados foram analisados no programa PowerMarker (v. 3.25) e os resultados estão descritos na Tabela 6. O número mínimo de 3 alelos foram detectados nos locos RM408, RM477, RM7309 e número máximo de 13 alelos nos locos RM415, RM422 e RM481. As amplitudes alélicas variaram de um mínimo de 68 pb para o loco RM6810, que é utilizado como controle entre os oito painéis e 399 pb para o loco RM422, presente nos painéis I e O. Obteve-se um total de 291 alelos nos 41 locos e média de 5,33 alelos para o loco D e de 8,66 no painel E (o Painel O contém marcadores encontrados em outros painéis).

Os valores de Diversidade Gênica (DG) por painel variaram de 0,33 para o loco RM1164 a 0,90 para o loco RM422, com um valor médio geral de $DG = 0,65$. Os valores de conteúdo informativo (PIC) variaram entre 0,31 e 0,89 para os locos

RM1164 e RM422, respectivamente, com valor médio geral de PIC= 0,64 (Painéis D a N), significativamente superior à média de PIC observada para todos os marcadores analisados.

As estimativas de Probabilidade de Identidade para cada painel foram: $8,6^{-6}$ para o painel D; $1,19^{-6}$ para o painel E; $2,1^{-6}$ para o painel F; $1,0^{-4}$ para o painel G; $7,6^{-7}$ para o painel H; $1,8^{-6}$ para o painel I; $5,5^{-7}$ para o painel N e $9,7^{-8}$ para o painel O. A Probabilidade de Identidade de todos os painéis combinados foi de $37,56^{-50}$. As estimativas de Probabilidade de Exclusão foram acima de 97% para o painel H, acima de 98% para os painéis E, F e I e acima de 99% para os painéis D, G, N e O. Estes resultados demonstram que, a probabilidade de indivíduo ser excluído da possibilidade de ter o mesmo genótipo de outro indivíduo com o conjunto de locos analisados é próxima de 100%.

Tabela 6 - Estatísticas descritivas dos marcadores que compõem os Painéis multiplex de microssatélites D,E,F, G, H, I, N e O, incluindo as Probabilidades de Identidade (PI) e de Exclusão (PE), obtidas pela genotipagem de acessos do Banco de Germoplasma de Arroz (Amostra 28)

PAINEL D - PE combinado = 0,9956						
Loco	alelo > Freq	Nº alelos	DG	PIC	PI	PE
RM6810	0,35	4	0,69	0,62	0,165	0,439
RM105	0,62	5	0,58	0,54	0,212	0,379
RM153	0,60	3	0,51	0,41	0,344	0,247
RM477	0,55	2	0,50	0,37	0,377	0,217
RM38	0,28	9	0,84	0,82	0,044	0,699
Média	0,48	4,60	0,62	0,55	8,64E-06	0,0044
PAINEL E - PE combinado = 0,9861						
RM6810	0,35	4	0,69	0,62	0,165	0,539
RM235	0,40	7	0,74	0,70	0,107	0,439
RM481	0,28	13	0,85	0,84	0,036	0,727
RM222	0,38	8	0,78	0,75	0,075	0,608
RM415	0,34	10	0,79	0,77	0,067	0,631
RM116	0,56	4	0,58	0,52	0,241	0,345
RM171	0,64	6	0,54	0,49	0,257	0,330
Média	0,39	7,67	0,74	0,70	1,19E-06	0,0139
PAINEL F - PE combinado = 0,9836						
RM6810	0,35	4	0,69	0,62	0,165	0,439

RM7431	0,55	4	0,59	0,52	0,235	0,353
RM7124	0,43	8	0,70	0,66	0,133	0,493
RM7226	0,29	7	0,79	0,75	0,078	0,603
RM475	0,58	5	0,60	0,55	0,208	0,383
OG45	0,30	8	0,80	0,78	0,064	0,638
Média	0,42	6	0,69	0,65	2,11E-06	0,0164
Painel G - PE combinado = 0,9982						
RM6810	0,35	4	0,69	0,62	0,165	0,439
RM7309	0,67	3	0,44	0,34	0,410	0,196
RM420	0,58	4	0,55	0,48	0,274	0,311
RM7504	0,42	6	0,73	0,70	0,109	0,534
RM7215	0,71	6	0,47	0,45	0,298	0,299
RM5359	0,55	5	0,64	0,60	0,173	0,427
Média	0,55	4,50	0,59	0,53	0,0001	0,0018
PAINEL H - PE combinado = 0,9775						
RM6810	0,35	4	0,69	0,62	0,165	0,439
OG61	0,23	11	0,87	0,85	0,031	0,747
RM307	0,65	5	0,55	0,51	0,239	0,350
RM201	0,41	6	0,71	0,67	0,128	0,501
RM336	0,33	7	0,79	0,76	0,075	0,610
RM22	0,31	5	0,76	0,72	0,095	0,564
RM19	0,34	6	0,74	0,70	0,112	0,530
Média	0,38	6,29	0,73	0,69	7,60E-07	0,0225
PAINEL I - PE combinado = 0,9869						
RM6810	0,35	5	0,69	0,62	0,165	0,439
RM408	0,70	3	0,47	0,39	0,387	0,223
RM1164	0,79	4	0,39	0,34	0,472	0,181
RM3412	0,27	10	0,81	0,79	0,059	0,652
RM592	0,21	12	0,89	0,88	0,375	0,779
RM422	0,17	13	0,90	0,89	0,379	0,797
Média	0,42	7,83	0,67	0,64	1,83E-06	0,0130
PAINEL N - PE combinado = 0,9975						
RM6810	0,35	4	0,69	0,62	0,165	0,439
OG10	0,73	3	0,42	0,37	0,052	0,680
RM447	0,81	4	0,33	0,31	0,133	0,489
RM300	0,27	8	0,81	0,79	0,076	0,608
RM7200	0,21	12	0,89	0,88	0,075	0,612
SSIIa.L4	0,46	7	0,70	0,66	0,191	0,403
Waxy.F3	0,36	8	0,77	0,74	0,074	0,614
RM418	0,17	13	0,90	0,89	0,077	0,596
Média	0,42	7,33	0,67	0,64	5,52E-07	0,00256
PAINEL O - PE combinado = 0,9967						
RM6810	0,35	5	0,69	0,62	0,165	0,439
RM235	0,40	7	0,74	0,70	0,107	0,540
RM105	0,62	5	0,58	0,54	0,212	0,379
RM336	0,33	7	0,79	0,76	0,075	0,610
RM22	0,31	5	0,76	0,72	0,095	0,564
RM3412	0,27	10	0,81	0,79	0,059	0,652

RM415	0,34	13	0,79	0,77	0,067	0,631
RM38	0,28	10	0,84	0,82	0,044	0,699
RM116	0,56	5	0,58	0,52	0,241	0,345
RM418	0,37	5	0,72	0,67	0,077	0,596
RM171	0,64	6	0,54	0,49	0,257	0,330
RM422	0,17	13	0,90	0,89	0,020	0,797
Média	0,39	7,58	0,73	0,69	9,67E-08	0,00332

A Figura 8 ilustra a distribuição conjunta dos marcadores microssatélites incluídos nos 8 painéis multiplex, localizados nos 12 cromossomos de *Oryza sativa*.

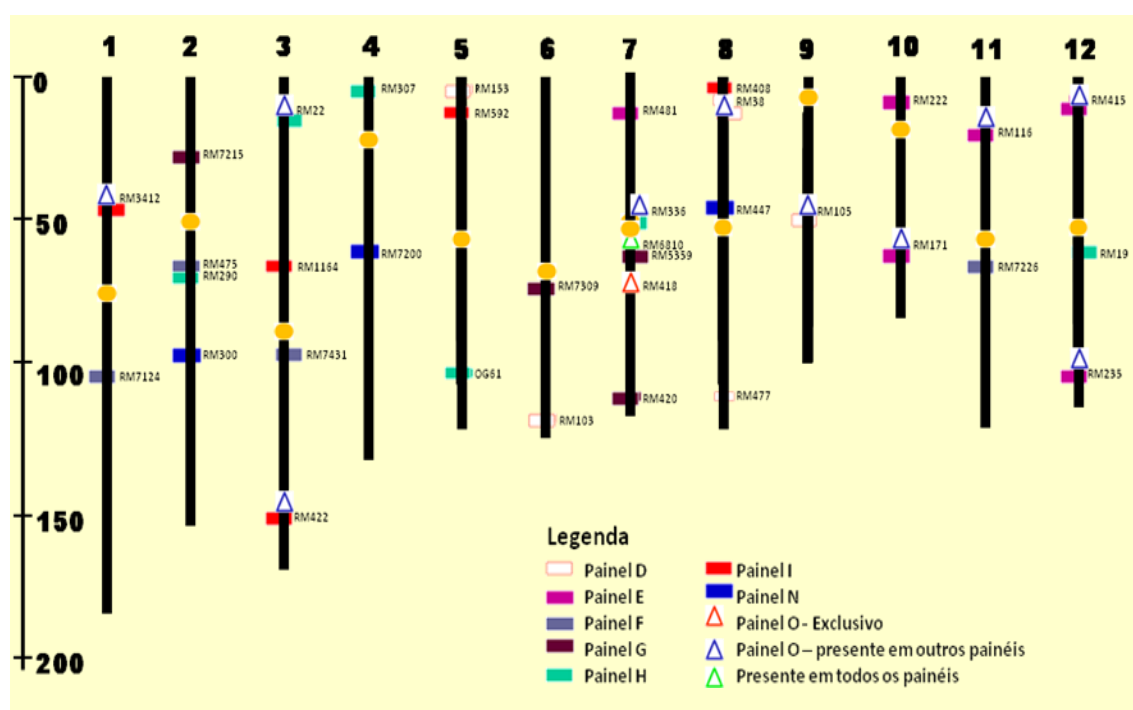


Figura 8 - Desenho esquemático da distribuição dos marcadores microssatélites que compõem os oito Painéis Multiplex (D, E, F, G, H, I, N, O) nos 12 cromossomos de arroz.

A grande quantidade de marcadores microssatélites desenvolvidos para o arroz e a disponibilização dessas informações em bancos de dados genômicos possibilitou a seleção de marcadores informativos e com características ideais para o desenvolvimento

de painéis multiplex para a espécie. Entre os dados que permitiram a construção de painéis robustos e informativos, como os oito painéis descritos neste trabalho, destacam-se: (a) informações de variação de tamanho dos alelos observadas para cada loco, empregadas com o objetivo de evitar a sobreposição de fragmentos amplificados; (b) informações de temperatura de anelamento de iniciadores de PCR, empregadas para combinar os marcadores nos painéis; (c) informações dos fluorocromos marcados nos iniciadores de PCR para evitar sobreposição alélica; (d) informações de conteúdo informativo de cada loco selecionado para compor os painéis, baseado na caracterização genética de acessos do Banco de Germoplasma.

Os oito painéis desenvolvidos neste trabalho (Painéis D, E, F, G, H, I, N e O) compõem um conjunto de 15 painéis desenvolvidos no Laboratório de Genética Vegetal da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. O objetivo do desenvolvimento desse conjunto de painéis é facilitar e aumentar a eficiência de realização de estudos genéticos da espécie, de forma rápida e acurada. As amplificações obtidas com a utilização do kit Multiplexer da Qiagen apresentaram-se robustas e de boa qualidade. Porém, os reagentes utilizados em rotina no laboratório apresentaram-se promissores para a amplificação conjunta dos locos microssatélites em forma de painéis, necessitando apenas de mais ajustes nas concentrações dos reagentes e condições de reação de polimerase em cadeia.

Os marcadores baseados em repetições de tetranucleotídeos são preferidos na composição de painéis multiplex por serem mais fácil e eficientemente utilizados na genotipagem, principalmente na avaliação de acessos diversos que compõem coleções de germoplasma. A determinação do alelo em pares de base (pb) e a qualidade dos eletroferogramas de locos de repetições de tetranucleotídeos facilitam o processo de genotipagem. No entanto, estes marcadores apresentam em geral menor polimorfismo que marcadores baseados em repetições de di e trinucleotídeos, além de apresentarem menor frequência no genoma. Na composição dos painéis do presente trabalho, foram escolhidos locos com no mínimo 3 alelos para que houvesse um incremento no poder informativo dos painéis. No entanto, observou-se que do total de 134 marcadores de tetranucleotídeos utilizados na genotipagem de 28 acessos de arroz, 43% dos locos apresentou um máximo de dois alelos, caracterizando o baixo polimorfismo dos locos

tetranucleotídeos. Já entre os marcadores baseados em repetições de dinucleotídeos, apenas 9% dos locos apresentaram um ou dois alelos. Portanto, foi possível incluir nos painéis um total de 14 locos de tetranucleotídeos,

O uso desses painéis de marcadores fluorescentes em sistema semi-automatizado contribui para o avanço nas caracterizações moleculares, permitindo a genotipagem de um grande número de acessos, com número elevado de marcadores distribuídos em todos os cromossomos da espécie. O desenvolvimento de um expressivo número de painéis microssatélites possibilita a genotipagem de um elevado número de indivíduos em um intervalo curto de tempo, seja para organização de bancos de germoplasma, para a determinação de vínculo genético, diversidade ou estruturação genética, ou ainda a análise de conversão de linhagens em retrocruzamentos.

1.4.5 Validação dos painéis multiplex de marcadores microssatélites

1.4.5.1 Teste de Identidade Genética para a Detecção de Acessos Duplicados no Banco de Germoplasma de Arroz Utilizando Painéis Multiplex de Microssatélites – Entre os oito painéis multiplex que foram desenvolvidos, três foram utilizados para analisar 16 acessos que apresentam denominação comum repetida na COLBASE (Coleção de Base) de Arroz mantida pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Os três painéis selecionados foram os Painéis G, H e I. Os acessos selecionados (Tabela 7) são repetições de variedades tradicionais na coleção: Lageado, Bico Ganga, Chorinho, Farroupilha, Come Cru, Canela de Ferro, Rabo de Burro, Poupa Preguiça, Meruim, Nenenzinho, Palha Murcha, Pingo D'água e Zebu. Os locos RM592 e RM422 do Painel I apresentaram algumas falhas, e não foram considerados na análise final dos dados. Após a genotipagem, foram considerados para análise os dados de 15 marcadores microssatélites nos acessos de variedades tradicionais (Tabela 7).

Tabela 7 – Genótipos multiloco de marcadores que compõem os Painéis G, H e I utilizado para a avaliação de variedades tradicionais de arroz com acessos repetidos na Coleção de Base (COLBASE) da Embrapa.

Acesso	OG61	OG61	RM19	RM19	RM22	RM22	RM290	RM290	RM307	RM307	RM336	RM336	RM408	RM408	RM1164	RM1164
1- Lageado	103	103	-	-	194	194	126	126	130	130	154	154	118	118	196	196
2- Lageado	103	103	212	212	192	192	140	140	128	128	166	166	126	126	190	190
3- Lageado	95	95	-	-	186	186	142	142	126	126	148	148	118	118	190	190
4- Lageado	133	133	242	242	194	194	126	126	126	126	154	154	118	118	190	190
6- Lageado	125	125	242	242	194	194	126	126	126	126	154	154	118	118	190	190
7- Lageado	133	133	-	-	190	190	126	140	128	128	148	148	118	126	190	190
9- Lageado	129	129	242	242	194	194	126	126	128	128	154	154	118	118	190	190
10- Lageado	105	105	-	-	190	190	126	126	126	126	148	148	118	118	190	190
11- Lageado	125	125	242	242	194	194	126	126	126	126	154	154	118	118	190	190
13- Lageado	125	129	242	242	194	194	126	126	126	126	154	154	118	118	190	190
14- Lageado	125	129	242	242	194	194	126	126	126	126	154	154	118	118	190	190
15- Lageado	125	125	242	242	194	194	126	126	126	126	154	154	118	118	190	190
16- Lageado	95	125	242	242	194	194	126	126	126	126	154	154	126	126	198	198
17- Lageado	125	125	242	242	194	194	126	126	126	126	154	154	118	118	190	190
18- Lageado	125	125	242	242	194	194	126	126	126	126	154	154	118	118	190	190
19- Lageado	125	125	242	242	194	194	126	126	-	-	154	154	118	118	190	190
20- Lageado	143	143	215	215	190	190	140	140	130	130	148	148	118	118	190	190
22- Lageado	129	129	233	242	194	194	126	126	122	122	154	154	118	118	190	190
23- Lageado	125	125	242	242	194	194	126	126	126	126	154	154	118	118	190	190
24- Lageado	129	129	242	242	194	194	126	126	126	126	154	154	118	118	190	190
25- Lageado	139	139	215	215	190	190	148	148	128	128	-	-	126	126	200	200
27- Lageado	129	133	242	242	194	194	126	126	126	126	154	154	118	118	190	190
32- Lageado	129	129	242	242	194	194	126	126	-	-	154	154	118	118	190	190
33- Lageado	129	129	242	242	194	194	126	126	126	126	154	154	118	118	190	190
34- Lageado	129	129	242	242	194	194	126	126	126	126	154	154	118	118	190	190

35- Lageado	129	129	242	242	194	194	126	126	126	126	154	154	118	118	190	190
36- Lageado	129	129	242	242	194	194	126	126	126	126	154	154	118	118	190	190
37- Lageado	129	129	242	242	194	194	126	126	126	126	154	154	118	118	190	190
38- Lageado	133	133	242	242	194	194	126	126	126	126	154	154	120	120	190	190
39- Lageado	129	129	242	242	194	194	126	126	126	126	154	154	118	118	190	190
40- Lageado	129	129	242	242	194	194	126	126	126	126	154	154	118	118	190	190
41- Lageado	129	129	242	242	194	194	126	126	126	126	154	154	118	118	190	190
42- Lageado	129	129	242	242	194	194	126	126	126	126	154	154	118	118	190	190
43- Lageado	133	133	242	242	194	194	126	126	126	126	154	154	118	118	190	190
44- Lageado	133	133	242	242	194	194	126	126	126	126	154	154	118	118	190	190
45- Lageado	129	129	242	242	194	194	126	126	126	126	154	154	118	118	190	190
46- Lageado	129	129	242	242	194	194	126	126	126	126	154	154	118	118	190	190
47- Lageado	129	129	242	242	194	194	126	126	126	126	154	154	118	118	190	190
48- Lageado	129	129	242	242	194	194	126	126	126	126	154	154	118	118	190	190
49- Bico Ganga	139	139	215	215	194	194	140	140	130	130	148	148	118	118	190	190
50- Bico Ganga	139	143	215	215	194	194	140	148	130	130	151	151	118	118	190	190
51- Bico Ganga	117	117	245	245	194	194	140	148	122	122	163	163	120	120	190	190
53- Chorinho	103	103	215	215	194	194	140	140	130	130	148	148	118	126	190	190
54- Chorinho	143	143	215	215	194	194	140	140	130	130	148	148	118	118	190	190
57- Farroupilha	95	95	212	212	186	186	142	142	126	126	148	148	126	126	198	198
58- Farroupilha	95	95	215	215	186	186	142	142	126	126	157	157	126	126	196	196
59- Farroupilha	95	95	215	215	186	186	142	142	126	126	157	157	126	126	198	198
60- Come Crú	139	139	215	215	190	190	140	140	128	128	148	148	126	126	200	200
61- Come Crú	139	139	215	215	190	190	138	138	128	128	148	148	126	126	200	200
62- Come Crú	139	143	215	215	190	190	140	140	128	128	148	148	118	118	190	190
63- Come Crú	139	139	215	215	190	190	140	140	128	128	148	148	126	126	200	200
64- Canela de Ferro	139	139	215	215	194	194	140	140	128	128	148	148	126	126	202	202
65- Canela de Ferro	139	139	215	215	190	190	140	140	128	128	148	148	126	126	200	200

66- Canela de Ferro	143	143	215	215	190	190	140	140	130	130	148	148	118	118	190	190
67- Canela de Ferro	139	139	215	215	190	190	140	140	128	128	148	148	126	126	200	200
68- Rabo de Burro	105	105	215	215	194	194	140	140	128	128	169	169	126	126	200	200
69- Rabo de Burro	105	105	215	215	194	194	140	140	128	128	169	169	126	126	200	200
70- Rabo de Burro	105	105	215	215	194	194	140	140	128	128	169	169	126	126	200	200
71- Rabo de Burro	105	105	215	215	194	194	140	140	128	128	169	169	126	126	198	198
72- Poupa Preguiça	105	105	215	215	194	194	140	140	128	130	148	148	118	118	190	190
73- Poupa Preguiça	105	105	215	215	194	194	140	140	128	130	148	148	118	118	190	190
74- Poupa Preguiça	105	105	215	215	194	194	140	140	128	130	148	148	118	118	190	190
75- Poupa Preguiça	105	105	215	215	194	194	140	140	130	130	148	148	118	118	190	190
76- Meruim	105	105	215	215	190	190	140	140	128	128	148	148	126	126	198	198
77- Meruim	105	119	215	245	194	194	140	140	122	122	148	148	120	120	190	190
78- Meruim	139	139	215	215	190	190	140	140	128	128	148	148	126	126	200	200
79- Meruim	139	139	215	215	190	190	140	140	128	128	148	148	118	126	198	198
80- Nenenzinho	143	143	215	215	194	194	140	140	128	128	166	166	118	118	200	200
81- Nenenzinho	143	143	215	215	194	194	140	140	128	128	166	166	118	118	198	198
82- Nenenzinho	105	105	215	215	190	190	140	140	128	128	148	148	126	126	200	200
83- Nenenzinho	105	105	215	215	198	198	140	140	128	128	148	148	120	120	200	200
84- Palha Murcha	105	139	215	215	190	190	140	140	128	128	148	148	126	126	198	198
85- Palha Murcha	139	139	215	215	190	190	140	140	128	128	148	148	126	126	200	200
86 - Palha Murcha	105	139	215	215	190	190	140	140	128	128	148	148	126	126	200	200
88- Pingo D'Água	139	139	215	215	190	190	140	140	128	128	148	148	126	126	198	198
89- Pingo D'Água	139	139	215	215	190	190	140	140	128	128	148	148	126	126	200	200
90- Pingo D'Água	139	139	215	215	190	190	140	140	128	128	148	148	126	126	200	200
91- Pingo D'Água	139	139	215	215	190	190	140	140	128	128	148	148	126	126	200	200
92- Zebu	139	139	215	215	190	190	140	140	128	128	148	148	126	126	200	200
94- Zebu	139	139	215	215	194	194	140	140	128	128	148	148	126	126	200	200
95- Zebu	139	139	215	215	194	194	140	140	128	128	148	148	126	126	200	200

Tabela 7 – continuação

Acesso	RM3412	RM3412	RM420	RM420	RM5359	RM5359	RM7215	RM7215	RM7309	RM7309	RM7504	RM7504	RM6810	RM6810
1- Lageado	225	225	186	186	196	196	88	100	148	148	239	239	64	64
2- Lageado	211	211	186	186	200	200	88	88	152	152	255	255	70	70
3- Lageado	207	207	190	190	196	196	88	100	148	148	239	239	70	70
4- Lageado	243	243	190	190	196	196	100	100	148	148	239	239	64	64
6- Lageado	243	243	190	190	196	196	100	100	148	148	239	239	64	64
7- Lageado	207	207	190	190	196	196	108	108	148	148	239	239	70	70
9- Lageado	243	243	190	190	196	196	100	100	148	148	239	239	88	88
10- Lageado	209	209	182	186	196	196	88	88	148	148	227	239	70	70
11- Lageado	243	243	190	190	196	196	100	100	148	148	239	239	64	64
13- Lageado	243	243	190	190	196	196	100	100	148	148	239	239	64	64
14- Lageado	211	211	182	182	196	196	88	88	76	76	-	-	70	70
15- Lageado	243	243	186	190	196	196	100	100	148	148	239	239	64	100
16- Lageado	207	207	198	198	196	196	108	108	152	152	235	235	70	70
17- Lageado	243	243	190	190	196	196	100	100	148	148	239	239	64	64
18- Lageado	243	243	190	190	196	196	100	100	148	148	239	239	64	64
19- Lageado	243	243	190	190	196	196	100	100	148	148	239	239	64	64
20- Lageado	207	207	182	182	192	192	88	88	152	152	251	251	187	187
22- Lageado	-	-	186	186	192	196	100	100	148	148	227	239	64	64
23- Lageado	243	243	186	186	196	196	100	100	148	148	239	239	64	64
24- Lageado	243	243	190	190	196	196	100	100	148	148	239	239	64	64
25- Lageado	207	207	186	186	204	204	88	88	152	152	251	251	154	154
27- Lageado	243	243	190	190	196	196	100	100	148	148	239	239	64	64
32- Lageado	243	243	190	190	196	196	100	100	148	148	239	239	64	64

33- Lageado	243	243	190	190	196	196	100	100	148	148	239	239	64	64
34- Lageado	243	243	190	190	196	196	100	100	148	148	239	239	64	64
35- Lageado	225	225	190	190	196	196	100	100	148	148	239	239	64	64
36- Lageado	243	243	190	190	196	196	100	100	148	148	239	239	64	64
37- Lageado	243	243	190	190	196	196	100	100	148	148	239	239	64	64
38- Lageado	243	243	190	190	196	196	100	100	148	148	239	239	64	64
39- Lageado	243	243	186	186	196	196	100	100	148	148	239	239	64	64
40- Lageado	243	243	190	190	196	196	100	100	148	148	239	239	64	94
41- Lageado	-	-	186	186	196	196	100	100	148	148	239	239	64	64
42- Lageado	-	-	186	186	196	196	100	100	148	148	239	239	64	94
43- Lageado	243	243	190	190	196	196	100	100	148	148	239	239	64	64
44- Lageado	243	243	190	190	196	196	100	100	148	148	239	239	64	64
45- Lageado	243	243	186	190	196	196	100	100	148	148	239	239	64	64
46- Lageado	243	243	186	186	196	196	100	100	148	148	239	239	64	94
47- Lageado	243	243	186	190	196	196	100	100	148	148	239	239	64	97
48- Lageado	243	243	186	190	196	196	100	100	148	148	239	239	64	94
49- Bico Ganga	215	215	182	182	192	192	88	88	152	152	251	251	88	88
50- Bico Ganga	211	211	182	182	192	192	88	88	152	152	251	251	88	88
51- Bico Ganga	211	211	182	182	204	204	88	88	148	148	235	235	64	64
53- Chorinho	211	211	186	186	192	192	88	88	152	152	251	251	70	70
54- Chorinho	211	211	186	186	204	204	88	88	152	152	251	251	70	70
57- Farroupilha	209	209	198	198	204	204	88	88	152	152	235	235	70	70
58- Farroupilha	209	209	198	198	204	204	108	108	152	152	235	235	70	70
59- Farroupilha	207	207	198	198	204	204	108	108	152	152	235	235	70	70
60- Come Crú	205	205	186	186	192	204	88	88	148	152	251	251	-	-
61- Come Crú	207	207	186	186	204	204	88	88	152	152	251	251	88	88
62- Come Crú	207	207	182	182	192	192	88	88	152	152	251	251	88	88

63- Come Crú	207	207	186	186	204	204	88	88	152	152	251	251	88	88
64- Canela de Ferro	207	207	186	186	192	192	88	88	148	148	251	251	88	88
65- Canela de Ferro	213	213	186	186	204	204	88	88	152	152	251	251	196	196
66- Canela de Ferro	207	207	182	182	192	192	88	88	152	152	251	251	88	88
67- Canela de Ferro	211	211	186	186	204	204	88	88	152	152	251	251	88	88
68- Rabo de Burro	207	207	186	186	192	192	88	88	152	152	255	255	88	88
69- Rabo de Burro	207	207	186	186	192	192	88	88	152	152	255	255	88	88
70- Rabo de Burro	205	205	186	186	192	192	88	88	152	152	255	255	88	88
71- Rabo de Burro	207	207	186	186	192	192	88	88	152	152	255	255	88	88
72- Poupa Preguiça	205	213	182	182	192	192	88	88	152	152	251	251	88	88
73- Poupa Preguiça	213	213	182	182	192	192	88	88	148	152	251	251	187	187
74- Poupa Preguiça	211	211	182	182	192	192	88	88	148	152	251	251	88	88
75- Poupa Preguiça	211	211	182	182	192	192	88	88	152	152	251	251	-	-
76- Meruim	219	219	186	186	192	192	88	88	152	152	255	255	88	88
77- Meruim	211	211	182	186	192	204	88	88	148	148	235	235	88	88
78- Meruim	219	219	186	186	200	200	88	88	148	148	251	251	88	88
79- Meruim	221	221	186	186	200	200	88	88	148	148	251	251	88	88
80- Nenenzinho	207	207	186	186	200	200	88	88	152	152	255	255	88	88
81- Nenenzinho	207	207	186	186	200	200	88	88	152	152	255	255	88	88
82- Nenenzinho	209	209	186	186	192	192	88	88	152	152	255	255	88	88
83- Nenenzinho	211	211	186	186	204	204	88	88	152	152	255	255	88	88
84- Palha Murcha	205	205	186	186	192	204	88	88	152	152	251	251	88	88
85- Palha Murcha	207	207	186	186	204	204	88	88	152	152	251	251	88	88
86 - Palha Murcha	207	207	186	186	204	204	88	88	152	152	251	251	88	88
88- Pingo D'Água	207	207	186	186	204	204	88	88	152	152	251	251	88	88
89- Pingo D'Água	207	207	186	186	204	204	88	88	152	152	251	251	88	88
90- Pingo D'Água	207	207	186	186	204	204	88	88	152	152	251	251	88	88

91- Pingo D'Água	207	207	186	186	204	204	88	88	152	152	251	251	88	88
92- Zebu	205	205	186	186	204	204	88	88	152	152	251	251	88	88
94- Zebu	207	207	186	186	192	192	88	88	148	148	255	255	88	88
95- Zebu	205	205	186	186	192	192	88	88	148	148	255	255	88	88

Os primeiros 48 acessos analisados apresentam o nome Lageado. Amostras da variedade tradicional Lageado foram coletadas em vários estados brasileiros. A análise de similaridade genética possibilitou o agrupamento de ~92% das amostras de Lageado em um único grupo (Figura 9). Apenas os acessos Lageado-25, Lageado-20 e Lageado-16 não agruparam com as demais acessos de denominação Lageado. Claramente, portanto, estes acessos são geneticamente distintos do padrão genotípico de Lageado.

Entre os 36 acessos de Lageado que formam o mesmo grupo (acessos com numeração variando de 1 a 39), vários possuem exatamente o mesmo genótipo multiloco, isto é, são praticamente idênticos (Tabela 7; Figura 9). Por exemplo, são idênticos os acessos:

- Lageado-4; Lageado-43 e Lageado-44
- Lageado-24; Lageado-32; Lageado-33; Lageado-34; Lageado-36; Lageado-37 (Figura 9);
- Lageado-6; Lageado-11; Lageado-17; Lageado-18; Lageado-19;
- Lageado-39; Lageado-41;
- Lageado-42; Lageado-46

Em geral, a diferença de genótipo em apenas um loco marcador considerando um conjunto 15 ou mais locos microssatélites não é suficiente para declarar se dois acessos são geneticamente distintos. Como os locos microssatélites apresentam taxa de mutação mais elevada do que a média de outras regiões genômicas (tipicamente em torno de 10^{-4}), é necessário que o efeito de mutação seja considerado em análises envolvendo estes marcadores. Assim, utiliza-se como ponto de corte a exclusão (genótipo distinto) em pelo menos 3 locos para diferenciar um acesso de outro com base na análise de dezenas marcadores moleculares.

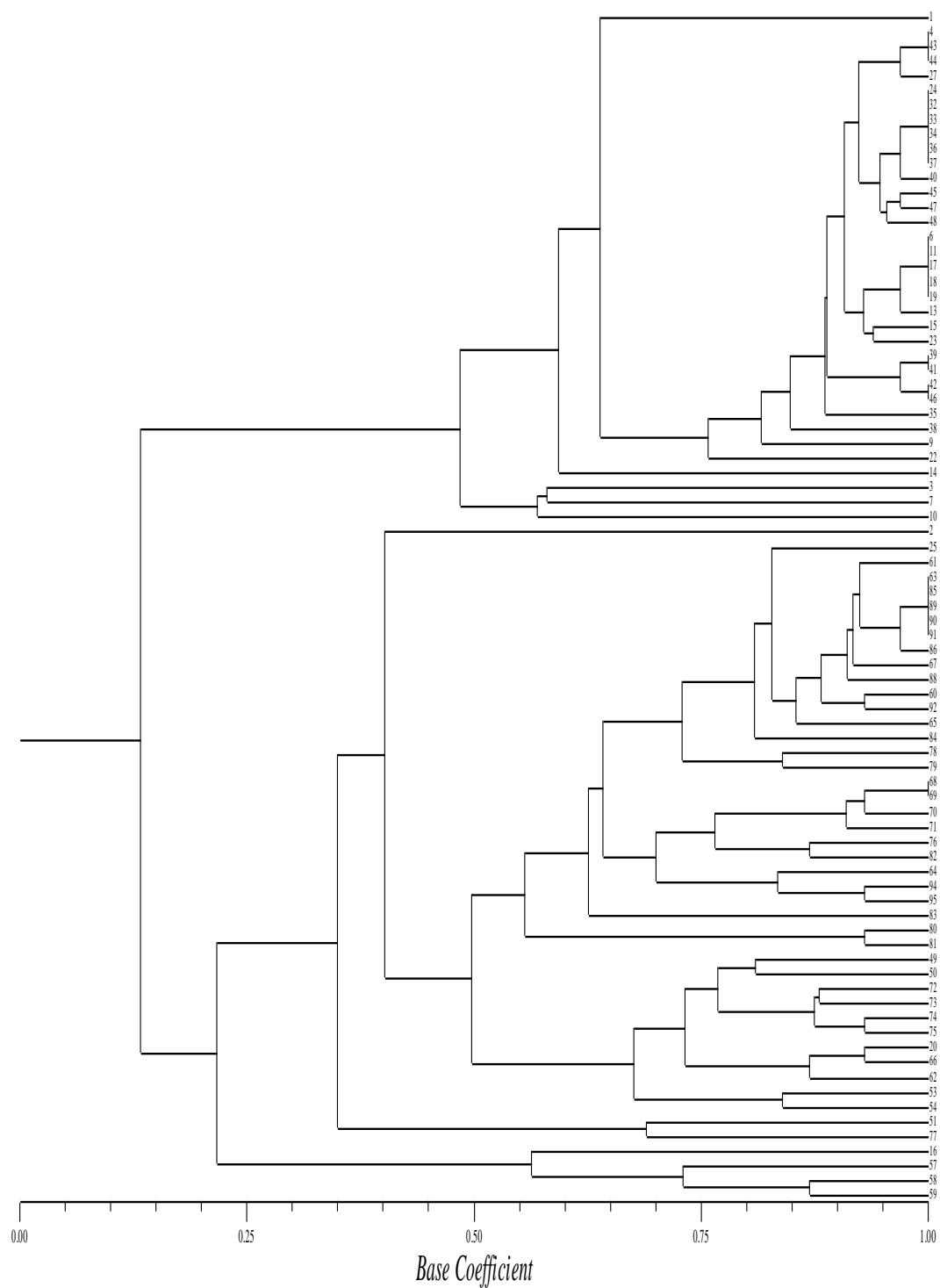


Figura 9 – Análise de similaridade genética entre acessos com denominação comum repetida na Coleção de Base de Arroz. A numeração de identificação dos acessos segue o descrito na Tabela 2.

Entre os acessos de Lageado geneticamente similares, observou-se que 45% não apresentam genótipo distinto em mais do que dois e 52% em mais do que três marcadores entre os 15 marcadores microssatélites testados. Isto significa que o nível de similaridade genética destes acessos é tão elevado (acima de 86,66% para diferenças abaixo de 2 locos) com o conjunto de marcadores testada que os acessos são considerados tecnicamente idênticos (Figura 10).

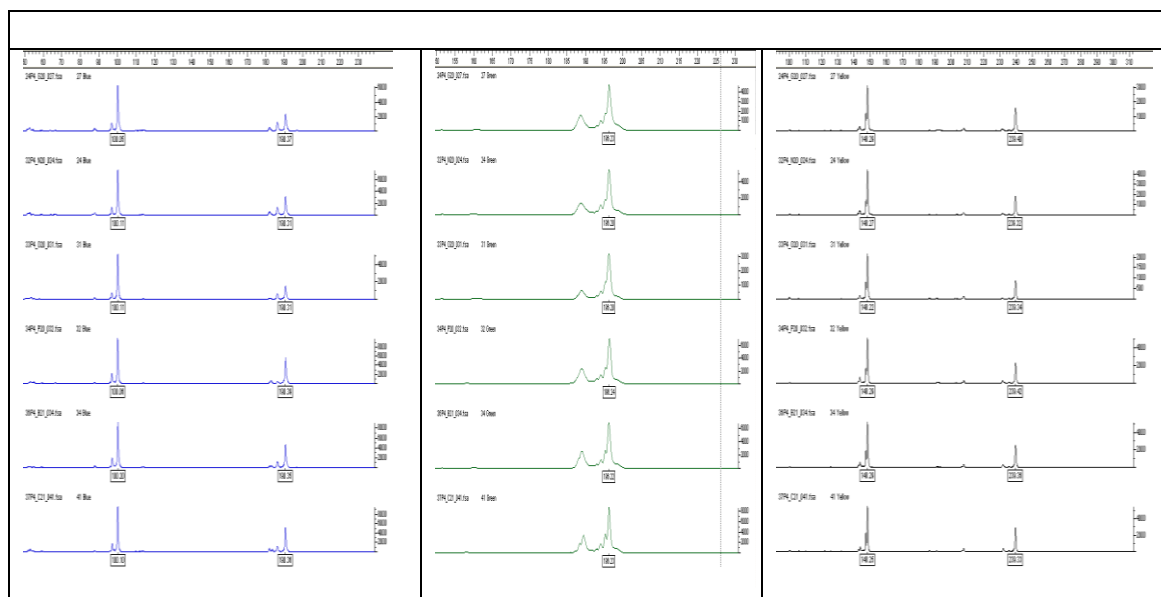


Figura 10 - A Coleção de Base de Arroz apresenta vários acessos com a mesma denominação comum. Alguns desses nomes, como Lageado, não são óbvios para uma cultivar de arroz e constituem bons exemplos para testar a duplicidade de acessos no banco de germoplasma. Os eletroferogramas acima apresentam o genótipo de seis variedades tradicionais com a denominação “Lageado” apresentando o mesmo perfil genético multiloco em cinco locos que compõem o Painel G.

Com base nos mesmos três painéis multiplex utilizados na análise, pode-se afirmar que apenas 38% dos acessos denominados Lageado na Coleção de Base apresentam genótipo distinto em mais do que quatro dos 15 locos testados, consistindo, portanto, em acessos geneticamente distintos. É importante comentar que no processo de coleta de acessos de variedades tradicionais de arroz nem sempre as amostras coletadas são homogêneas e geneticamente puras, o que contribui para a constatação de

heterozigosidade aparente em algumas amostras, ou amplificação espúria de alelos contaminantes, provocando em parte esta distinção entre os acessos.

Este nível de duplicação (>46%) de genótipos em um grupo de acessos com a mesma denominação comum (ex. Lageado) é muito elevado. O custo de conservação de amostras duplicadas é alto, além de afetar sobremaneira o trabalho de manutenção, multiplicação e conservação de coleções. É comum observar-se mistura de linhagens, ou mesmo segregação nas amostras conservadas em bancos de germoplasma. Neste trabalho, 60 sementes de cada acesso foram germinadas e utilizadas em grupo (“bulk”) para extração de DNA. A análise em “bulk” não permite distinguir se uma amostra com dois alelos em um loco apresenta heterozigosidade residual ou mistura de genótipos. Não obstante, os 15 marcadores distribuídos em 3 painéis multiplex permitiram identificar várias amostras denominadas Lageado com genótipo multiloco completamente idêntico, bem como um alto percentual de amostras (>46%) com genótipo multiloco praticamente idêntico (diferença de genótipo em apenas um ou dois locos). Este alto percentual de amostras de Lageado praticamente idênticas em uma coleção de conservação de germoplasma de longo prazo (COLBASE) alerta para a necessidade de diagnóstico da qualidade das coleções de germoplasma no Brasil. Ferramentas moleculares, como marcadores microssatélites em painéis de amplificação simultânea, podem contribuir para este diagnóstico.

A análise dos dados dos outros acessos genotipados (Chorinho, Puteca, Bico Ganga, etc.), permitiu observar que, regra geral, acessos de mesmo nome ou apresentavam genótipo multiloco idêntico ou agruparam em subgrupos com acessos de mesmo nome. Por exemplo, os acessos Pingo D’Água-89, Pingo D’Água-90 e Pingo D’Água-91, assim como Rabo de Burro-68 e Rabo de Burro-69 apresentaram genótipo multiloco idêntico. Os demais acessos, sempre que identificados com o mesmo nome comum, agruparam em subgrupos onde o nível de similaridade era muito elevado (>87%) (Figura 9).

No entanto, algumas exceções foram observadas que indicam que acessos com nome distinto podem também ser geneticamente idênticos. Por exemplo, os acessos Come Crú-63 e Palha Murcha-85 são geneticamente idênticos, apesar de terem nomes distintos. Estes dois acessos possuem o mesmo genótipo multiloco observado em Pingo

D'Água-89, Pingo D'Água-90 e Pingo D'Água-91. Outros acessos que não agruparam com acessos de mesmo nome foram: Bico Ganga-51; Come Crú-61; Come Crú-63; Meruim-76 e Meruim-77; Nenenzinho-82; Nenenzinho-83; Palha Murcha-84 e Zebu-92. É interessante observar que os quatro acessos Canela de Ferro (64, 65, 66, 67) não agrupam entre si, indicando que este nome comum tem sido dado a acessos geneticamente distintos.

Considerando-se os 15 acessos com nome comum não óbvio amostrados na Coleção de Base de Arroz e apresentando diferentes níveis de duplicação na coleção, observou-se que os seguintes acessos diferem apenas em um ou dois locos entre os 15 testados:

- Chorinho-53 e Chorinho-54 (84%);
- Farroupilha-58 e Farroupilha-59 (87%);
- Come Crú-61 e Come-Crú-63 (93%);
- Canela de Ferro-65 e Canela de Ferro-67 (87%);
- Rabo de Burro-68 e Rabo de Burro-69 (100%); Rabo de Burro-68 e Rabo de Burro-70 (93%); Rabo de Burro-69 e Rabo de Burro-70 (93%);
- Poupa Preguiça-72 e Poupa Preguiça-73 (88%); Poupa Preguiça-72 e Poupa Preguiça-74 (88%); Poupa Preguiça-72 e Poupa Preguiça-75 (88%); Poupa Preguiça-73 e Poupa Preguiça-74 (88%); Poupa Preguiça-73 e Poupa Preguiça-75 (87%); Poupa Preguiça-74 e Poupa Preguiça-75 (93%);
- Meruim-78 e Meruim-79 (84%);
- Nenenzinho-80 e Nenenzinho-81 (93%);
- Palha Murcha-84 e Palha Murcha-86 (85%); Palha Murcha-85 e Palha Murcha-86 (97%);
- Pingo D'Água-88 e Pingo D'Água-89 (93%); Pingo D'Água-88 e Pingo D'Água-90 (93%); Pingo D'Água-88 e Pingo D'Água-91 (93%); Pingo D'Água-89 e Pingo D'Água-90 (100%); Pingo D'Água-89 e Pingo D'Água-91 (100%); Pingo D'Água-90 e Pingo D'Água-91 (100%);
- Zebu-94 e Zebu-95 (93%).

Os dados permitem concluir que, em média, cerca de 65,4% dos acessos de nome comum repetidos na coleção avaliada são geneticamente idênticos (genótipos

distintos em apenas um ou dois locos entre dezenas de marcadores testados). Os bancos de germoplasma necessitam de avaliação periódica com a finalidade principal de manter a representatividade da diversidade da espécie. A genotipagem de acessos de bancos de germoplasma com painéis multiplex de marcadores microssatélites permite a obtenção de dados genotípicos de forma rápida, acurada e eficiente, facilitando a organização e manutenção econômica de coleções de germoplasma.

Os resultados obtidos indicam que o conjunto de marcadores é eficiente para a diferenciação genética de indivíduos ou para a identificação de duplicações de um banco de germoplasma, devido ao seu elevado grau de polimorfismo. O uso dos painéis multiplex para a genotipagem de 15 locos microssatélites em apenas três reações de PCR observados em 81 amostras demonstrou ser funcional e adequado para identificação de duplicações em banco de germoplasma, com elevada capacidade de coleta de dados em um período curto de tempo.

1.4.5.2 Estimativa do Percentual de Conversão do Genoma em Programa de Retrocruzamento para Resistência a Herbicida

Foram testados os oito painéis de locos microssatélites desenvolvidos neste trabalho (Painéis D, E, F, G, H, M, N e O) e um painel adicional, desenvolvido anteriormente (PESSOA-FILHO *et al.*, 2007), para a análise de polimorfismo entre a cultivar BRS 7 Taim e duas das linhagens derivadas desta genitora (CNA10754 e CNA10756) e a cultivar Pelota e as duas linhagens derivadas desta genitora (CNA10757 e CNA10758) (Figura 11).

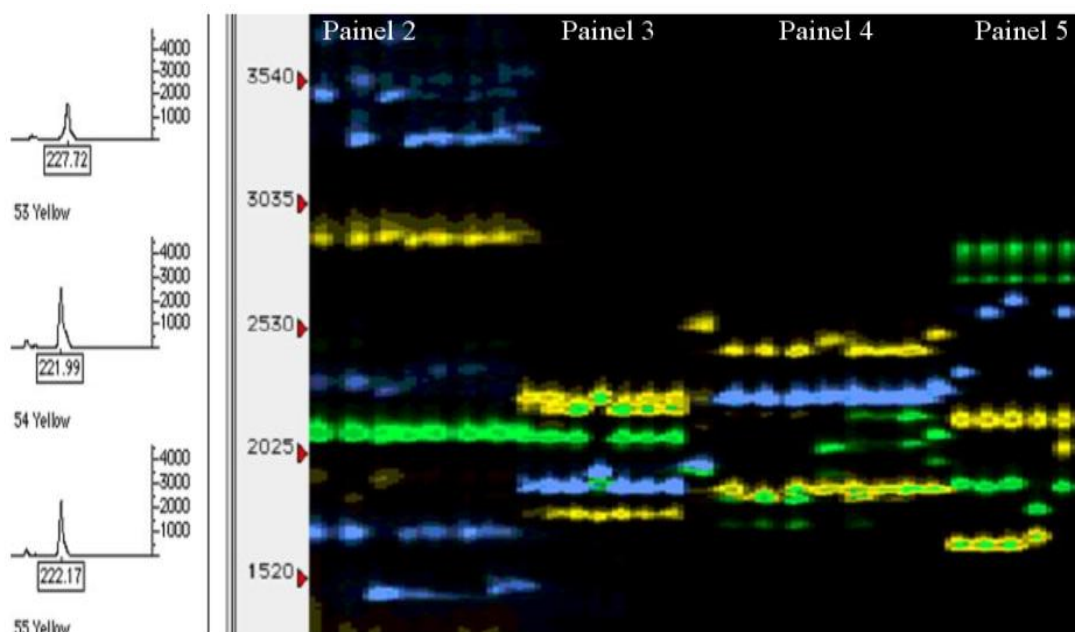


Figura 11 - Quatro painéis multiplexes com fluorescências 6-FAM, HEX e NED em linhagens quase isogênicas de tolerância à herbicida (7 genótipos) em seqüenciador automático de DNA ABI377. Nipponbare foi usado como genótipo controle (pista 8).

Oito locos microssatélites (RM22, RM7431, RM592, OG61, RM7309, RM336, RM408 e RM38) não apresentaram polimorfismo entre o mutante 93AS3510 e a cultivar BRS 7 Taim. Um dos locos (OG101) apresentou-se heterozigoto e com um alelo em comum entre o mutante 93AS3510 e a cultivar BRS 7 Taim. A análise do DNA extraído em bulk das sementes obtidas em RC₃F₅ indicou que a linhagem CNA10754 só é diferenciada da cultivar BRS 7 Taim em dois locos (RM300 e RM475) (Tabela 8). Isto representa um índice de conversão observado de 97,67%, após correção

por efeito de seleção positiva para alelos da linhagem 93AS3510 no gene ALS. Já a linhagem CNA10756 é diferenciada da cultivar BRS Taim em cinco locos (RM300, RM263, RM335, RM418 e RM171), o que representa um índice de conversão observado de aproximadamente 91,86% (Tabela 8).

Na comparação do genótipo multiloco da cultivar BRS Pelota e duas das linhagens derivadas desta genitora (CNA10757 e CNA10758), quatro locos microssatélites (RM22, RM7431, OG61 e RM38) não apresentaram polimorfismo entre o mutante 93AS3510 e a cultivar BRS Pelota. Dois dos locos (RM420 e OG101) apresentaram-se heterozigotos e com um alelo em comum entre o mutante 93AS3510 e a cultivar BRS Pelota. A análise do DNA extraído em bulk das sementes obtidas em RC₃F₅ indica que a linhagem CNA10757 é diferenciada da cultivar BRS Pelota em cinco locos (RM300, RM422, OG44, RM592 e RM7309) (Tabela 9). Isto representa um índice de conversão observado de aproximadamente 92% após correção por efeito de seleção positiva para alelos da linhagem 93AS3510 no gene ALS. Já a linhagem CNA10758 é diferenciada da cultivar BRS Pelota em quatro locos (RM7309, RM420, RM222 e OG101), o que representa um índice de conversão observado de aproximadamente 94,18% (Tabela 9).

A análise de distância genética par-a-par entre quatro novas linhagens CL derivadas de BRS 7 Taim (CNA10754 e CNA10756) e BRS Pelota (10757 e CNA 10758) e outros 23 acessos do banco de germoplasma de arroz incluem estas linhagens, conforme esperado, no grupo de acessos da subespécie *indica* (Figura 12). Os dados de distância genética corroboram ainda a grande similaridade genética entre estas linhagens e as suas respectivas genitoras. Observa-se, ainda, que as novas linhagens pertencem a grupos distintos da cultivar IRGA 417 que originou através de retrocruzamentos a IRGA 422 CL, a cultivar resistente a herbicida imidazolinona mais plantada no Rio Grande do Sul, o que contribui para a oferta de material tolerante e, ao mesmo tempo, geneticamente mais diverso para o agricultor.

Tabela 8 - Perfil genético multiloco de linhagens quase isogênicas (CNA10754 e CNA10756), parental recorrente (BRS 7 Taim), parental doadora (93AS3510) e controle (Nipponbare) em programa de retrocruzamento para tolerância a herbicida da classe imidazolinona.

Loco	CNA10754	CNA10756	BRS 7 Taim	93AS3510	Nipponbare
RM5359	193/193	193/193	193/193	191/191	191/191
RM3412	223/223	223/223	223/223	211/211	209/209
RM7405	223/223	223/223	223/223	228/228	109/109
RM7124	154/154	154/154	154/154	162/162	158/166
RM7215	99/99	99/99	99/99	87/87	107/107
RM300	163/163	163/163	124/124	163/163	166/166
RM263	181/181	155/181	181/181	155/155	157/157
RM475	197/197	193/193	193/193	197/197	235/235
RM22	191/191	191/191	191/191	191/191	187/187
RM1164	190/190	190/190	190/190	200/200	200/200
RM7431	139/139	139/139	139/139	139/139	143/143
RM422	381/381	381/381	381/381	389/389	385/385
OG44	154/154	154/154	154/154	166/166	154/154
RM335	151/151	118/118	151/151	118/118	112/112
RM307	122/122	122/122	122/122	124/124	128/128
RM153	198/198	198/198	198/198	201/201	198/198
RM592	275/275	275/275	275/275	275/275	154/254
OG61	135/135	135/135	135/135	135/135	97/97
OSR19	212/212	212/212	212/212	194/194	194/194
RM7309	152/152	152/152	152/152	152/152	152/152
RM418	292/292	279/279	292/292	279/279	285/285
RM336	166/166	166/166	166/166	166/166	148/148
RM420	184/184	184/184	184/184	196/196	180/180
RM481	148/148	148/148	148/148	157/157	166/166
RM6810	69/69	69/69	69/69	84/84	61/61
RM408	120/120	120/120	120/120	120/120	126/126
RM38	249/249	249/249	249/249	249/249	255/255
RM477	217/217	217/217	217/217	221/221	221/221
RM105	126/126	126/126	126/126	132/132	131/131
RM201	153/153	153/153	153/153	143/143	141/141
OG10	92/92	92/92	92/92	84/84	122/128
OG106	202/202	202/202	202/202	240/240	222/222
OG45	222/222	222/222	222/222	240/240	238/238
RM171	323/323	343/343	323/323	343/343	327/327
RM222	208/208	208/208	208/208	204/204	198/198
RM116	276/276	276/276	276/276	278/278	178/278

RM7283	183/183	183/183	183/183	171/171	183/183
RM7226	179/179	179/179	179/179	155/155	163/163
RM224	131/131	131/131	131/131	121/121	157/157
RM235	128/128	128/128	128/128	94/94	98/98
RM415	224/224	224/224	224/224	238/238	226/240
RM7504	223/223	223/223	223/223	227/227	231/231
L4	227/227	227/227	227/227	211/211	195/195
OG101	137/151	137/151	137/151	137/137	-

Tabela 9 - Perfil genético multiloco de linhagens quase isogênicas (CNA10757 e CNA10758), parental recorrente (BRS Pelota), parental doadora (93AS3510) e controle (Nipponbare) em programa de retrocruzamento para tolerância a herbicida da classe imidazolinona.

Loco	CNA10757	CNA10758	BRS Pelota	93AS3510	Nipponbare
RM5359	193/193	193/193	193/193	191/191	191/191
RM3412	223/223	223/223	223/223	211/211	209/209
RM7405	223/223	223/223	223/223	228/228	109/109
RM7124	154/154	154/154	154/154	162/162	158/166
RM7215	99/99	99/99	99/99	87/87	107/107
RM300	163/163	124/124	124/124	163/163	166/166
RM263	181/181	181/181	181/181	155/155	157/157
RM475	193/193	193/193	193/193	197/197	235/235
RM22	191/191	191/191	191/191	191/191	187/187
RM1164	190/190	190/190	190/190	200/200	200/200
RM7431	139/139	139/139	139/139	139/139	143/143
RM422	389/389	381/381	381/381	389/389	385/385
OG44	166/166	154/154	154/154	166/166	154/154
RM335	151/151	151/151	151/151	118/118	112/112
RM307	128/128	128/128	128/128	124/124	128/128
RM153	198/198	198/198	198/198	201/201	198/198
RM592	275/275	291/291	291/291	275/275	154/254
OG61	135/135	135/135	135/135	135/135	97/97
OSR19	212/212	212/212	212/212	194/194	194/194
RM7309	152/152	152/152	148/152	152/152	152/152
RM418	292/292	292/292	292/292	279/279	285/285
RM336	166/166	166/166	166/166	166/166	148/148
RM420	184/184	184/196	184/184	196/196	180/180
RM481	148/148	148/148	148/148	157/157	166/166
RM6810	69/69	69/69	69/69	84/84	61/61
RM408	120/120	120/120	120/120	120/120	126/126
RM38	249/249	249/249	249/249	249/249	255/255
RM477	217/217	217/217	217/217	221/221	221/221
RM105	126/126	126/126	126/126	132/132	131/131
RM201	153/153	153/153	153/153	143/143	141/141
OG10	92/92	92/92	92/92	84/84	122/128
OG106	202/202	202/202	202/202	240/240	222/222
OG45	222/222	222/222	222/222	240/240	238/238
RM171	323/323	323/323	323/323	343/343	327/327
RM222	214/214	204/204	208/214	204/204	198/198
RM116	276/276	276/276	276/276	278/278	178/278
RM7283	183/183	183/183	183/183	171/171	183/183
RM7226	179/179	179/179	179/179	155/155	163/163
RM224	157/157	157/157	131/157	121/121	157/157

RM235	128/128	128/128	128/128	94/94	98/98
RM415	224/224	224/224	224/224	238/238	226/240
RM7504	223/223	223/223	223/223	227/227	231/231
L4	203/203	203/203	203/203	211/211	195/195
OG101	135/149	137/149	135/149	137/137	-

Após seleção para tolerância ao herbicida em cada geração de retrocruzamento, o percentual médio esperado de indivíduos RC3 com conversão para o genoma do parental recorrente é 93,75%. A conversão genotípica observada nestas linhagens variou de 91,86 a 97,67%, indicando, conforme observado na análise fenotípica, que as novas linhagens CL têm um comportamento muito similar às suas respectivas genitoras e, adicionalmente, apresentam tolerância a herbicidas imidazolinonas. A seleção de plantas tolerantes em cada geração e o retrocruzamento individualizado resultou em sucesso no nível de conversão das novas linhagens tolerantes a herbicida. A análise do genótipo multiloco permitiu observar ainda que o nível de heterozigosidade residual na amostra analisada de cada nova linhagem tolerante é baixo, variando de 0 a 4,5%.

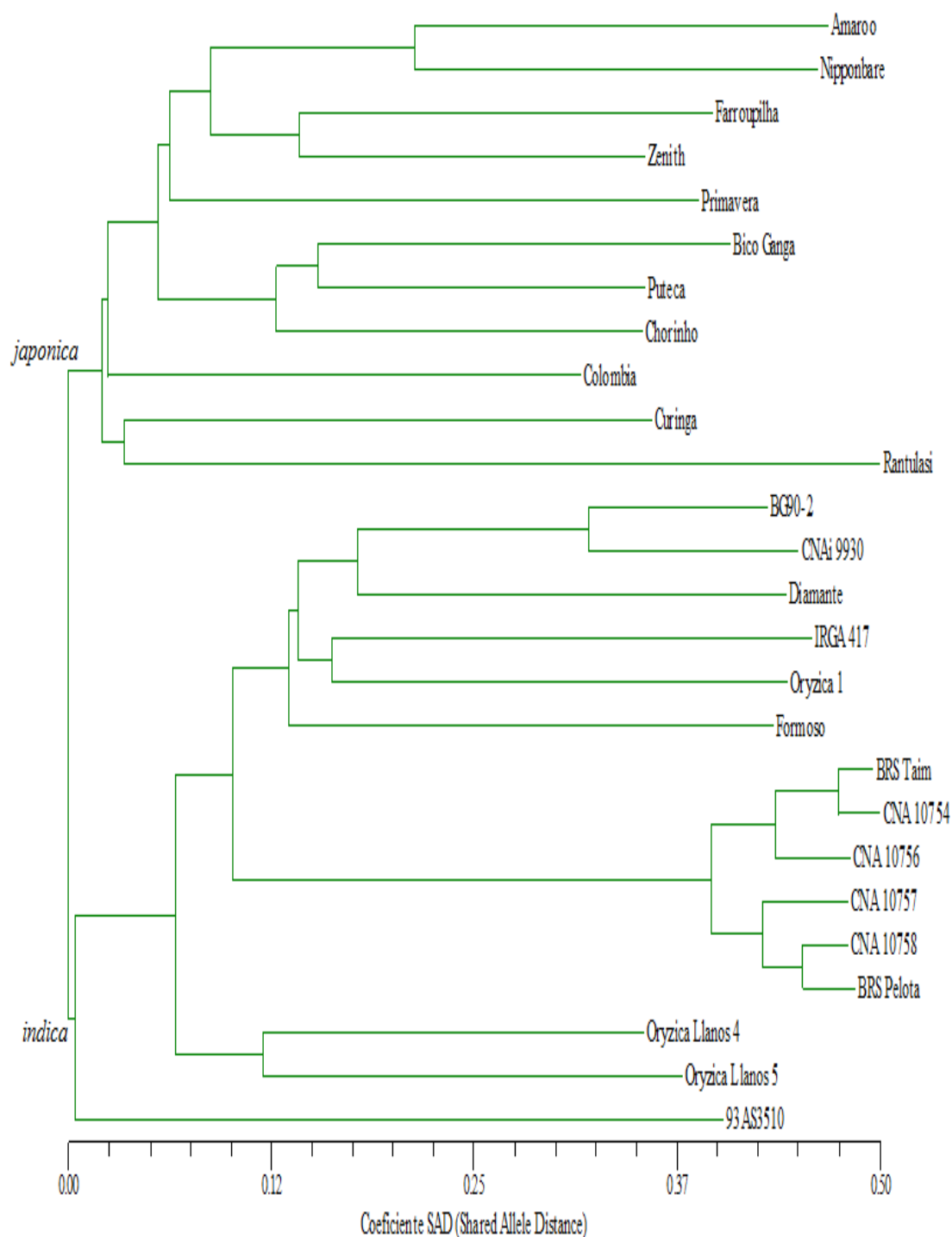


Figura 12 - Dendrograma derivado das estimativas de distância genética pelo coeficiente SAD (*Shared Allele Distance*) e análise de agrupamento pelo método Neighbor-Joining de 27 acessos das subespécies *indica* e *japonica* de arroz, incluindo quatro novas linhagens de arroz tolerantes a herbicida imidazolinona (CNA 10754, CNA 10756, CNA 10757 e CNA 10758). A análise de polimorfismo de DNA entre os acessos foi baseada em 44 locos de marcadores microssatélites distribuídos no genoma de arroz.

1.4.5.3 Estimativa das relações de vínculo genético entre acessos do Banco de Germoplasma de Arroz – Uma avaliação da eficiência de painéis multiplex de microssatélites na caracterização de recursos genéticos foi realizada com base na comparação de estimativas de parâmetros genéticos utilizando 405 marcadores moleculares com estimativas baseadas em painéis multiplex com um número 20x menor de marcadores. Os Painéis Multiplex E, H e I foram empregados neste experimento. Portanto, comparou-se a eficiência da genotipagem de cada acesso do Banco de Germoplasma (Amostra 41) após 405 ensaios de PCR por amostra com a genotipagem dos mesmos acessos empregando-se apenas 3 ensaios PCR por amostra (três painéis multiplex).

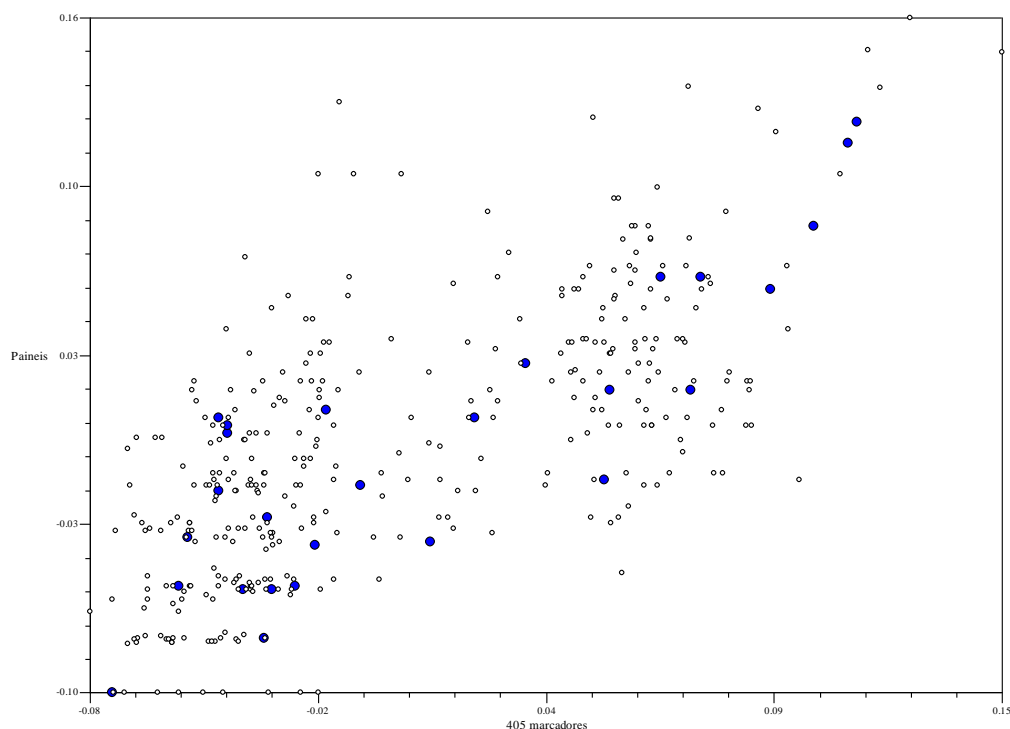


Figura 13 - Valores de similaridade de uma matriz simétrica obtida com a genotipagem de 28 acessos de arroz com 405 marcadores microssatélites (eixo X) com uma matriz simétrica de similaridade obtida com os Painéis E, H e I (eixo Y). Os círculos achurados representam os valores de similaridade da cultivar Chorinho em comparações par-a-par com os demais acessos (Mantel $r=0,695$).

A matriz simétrica de estimativas de similaridade genética gerada com o emprego dos painéis E, H e I foi comparada com a matriz gerada com os 405

marcadores (Figura 13). A plotagem dos valores de similaridade das duas matrizes, após normalização com 1000 permutações, detectou uma correlação significativa ($r=0,695$; Mantel Teste $T=11,83$; $p\text{-valor}<0,001$) entre os 378 valores de similaridade em cada uma das duas matrizes simétricas.

Os dendrogramas obtidos com a análise de 405 marcadores e com os painéis E, H e I apresentam a mesma topologia e são praticamente idênticos (Figura 14). Estes resultados indicam que o emprego dos painéis multiplex de microssatélites aumenta significativamente a eficiência de genotipagem. Com um número reduzido de marcadores selecionados e de ensaios PCR, obtém-se um poder de discriminação de acessos em Coleções de Germoplasma similar ao emprego de um grande número de marcadores. A partir de aproximadamente duas dezenas de marcadores com alto conteúdo de informação polimórfica (PIC), o incremento no uso de marcadores microssatélites não aumenta a eficiência no poder de discriminação de acessos do Banco de Germoplasma.

Os painéis de marcadores microssatélites foram utilizados para genotipar acessos do Banco de Germoplasma de Arroz que apresentam variabilidade genética para resistência à brusone (causada pelo fungo *Magnaporthe grisea*) e tolerância à seca e ao frio, temas tratados nos Capítulos 2 e 3. Para isto, quarenta e um acessos de arroz foram analisados com os 8 painéis multiplex de marcadores microssatélites. As estimativas de parâmetros genéticos são apresentadas na Tabela 10.

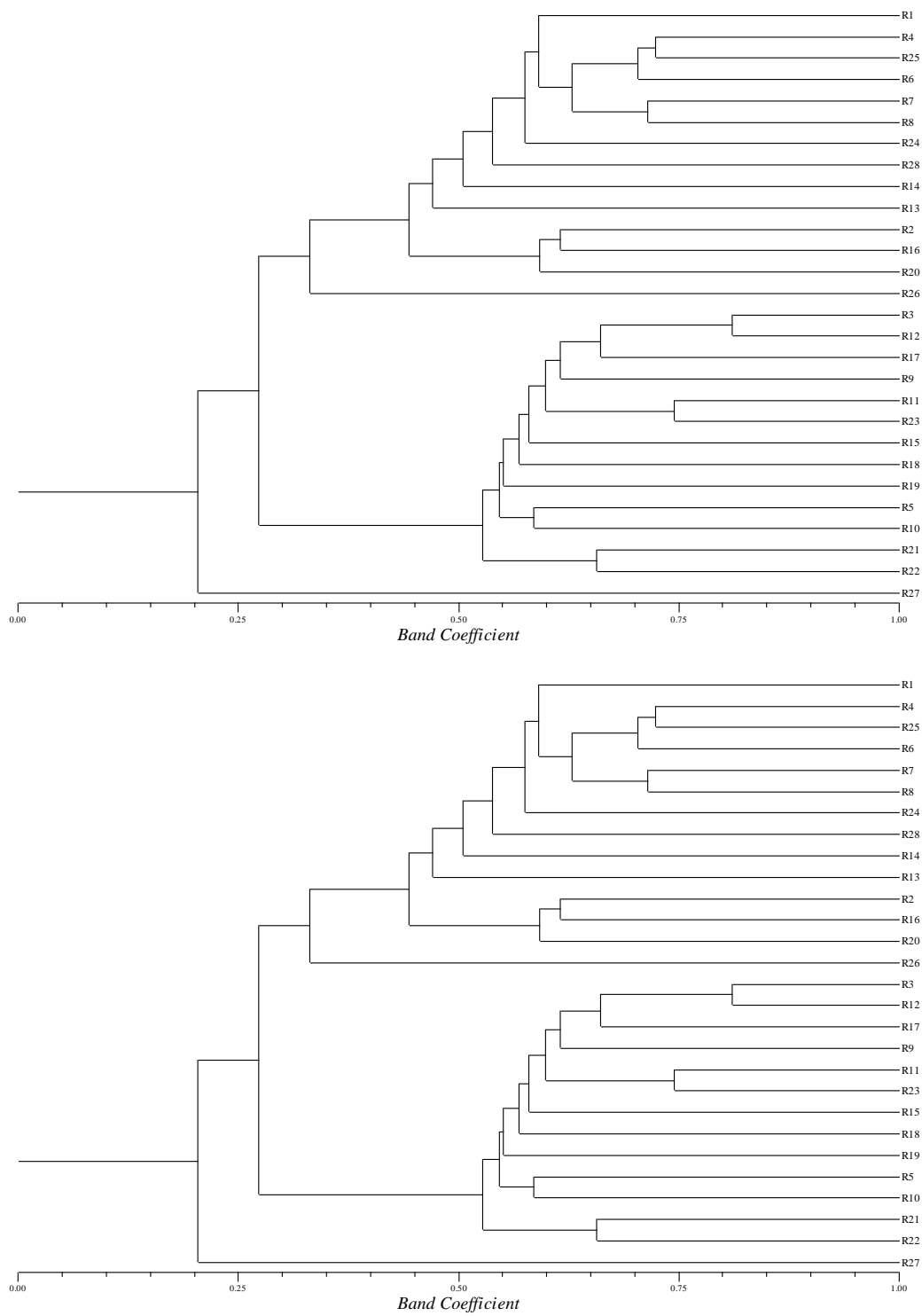


Figura 14 – Dendrogramas de similaridade genética entre 28 acessos do Banco de Germoplasma baseados em 405 marcadores microssatélites (superior) e 18 marcadores distribuídos nos Painéis E, H e I (inferior).

Tabela 10 – Estimativas de parâmetros genéticos para marcadores microssatélites que compõem os Painéis D, E, F, G, H, I, N e O obtidas com amostra de acessos de arroz que apresentam variabilidade genética para tolerância à seca, ao frio e à brusone (Amostra 41)

Loco	Alelo > Freq	Nº de alelos	DG	PIC
Waxy.F3	0,21	11	0,866	0,852
SSIIa.L4	0,37	7	0,777	0,748
OG10	0,93	3	0,132	0,127
RM116	0,64	3	0,527	0,471
RM171	0,67	5	0,517	0,481
RM222	0,27	8	0,816	0,792
RM235	0,31	12	0,817	0,796
RM300	0,39	7	0,750	0,715
RM408	0,45	5	0,635	0,567
RM415	0,24	15	0,888	0,879
RM420	0,63	3	0,539	0,481
RM481	0,20	21	0,913	0,907
RM592	0,11	18	0,924	0,919
RM1164	0,40	6	0,696	0,646
RM3412	0,17	15	0,900	0,892
RM5359	0,41	6	0,736	0,698
RM6810P2	0,46	4	0,646	0,577
RM7200	0,39	12	0,792	0,773
RM7215	0,68	6	0,515	0,488
RM7309	0,62	2	0,473	0,361
RM7504	0,35	8	0,786	0,759
OG45	0,41	7	0,709	0,662
OG61	0,19	14	0,900	0,892
RM19	0,31	9	0,769	0,734
RM22	0,32	9	0,803	0,778
RM38	0,34	10	0,811	0,791
RM103	0,97	2	0,054	0,053
RM105	0,58	6	0,595	0,548
RM153	0,70	2	0,422	0,333
RM290	0,49	8	0,704	0,675
RM307	0,34	5	0,723	0,674
RM336	0,47	6	0,660	0,603
RM475	0,58	4	0,599	0,555
RM477	0,64	2	0,461	0,355
RM7124	0,41	5	0,702	0,650
RM7226	0,36	9	0,799	0,777
RM7431	0,67	4	0,494	0,444
Média	0,45	8	0,672	0,634

Observou-se, inicialmente, correlações positivas e significativas entre as estimativas de número de alelos por loco, Diversidade Gênica e PIC obtidas com a

genotipagem de 41 acessos arroz realizada neste ensaio (Tabela 10), e as estimativas baseadas em outros 26 acessos (Tabela 6) do Banco de Germoplasma ($r= 0,88$, $r= 0,80$, $r= 0,84$, respectivamente, com valores de $p<0,001$). As duas amostragens do Banco de Germoplasma, portanto, parecem ser representativas da diversidade genética de arroz mantida na coleção.

Comparações par-a-par dos genótipos obtidos permitiram estimar a similaridade genética entre os acessos analisados. O dendrograma de agrupamento dos acessos com base no coeficiente de banda (*band coefficient* - LYNCH, 1990) e agrupamento por UPGMA revela a separação dos acessos nas subespécies *indica* e *japonica* (Figura 14).

O grupo da subespécie *indica* inclui cultivares de arroz irrigado de importância histórica no melhoramento genético de arroz, como IR8 (variedade símbolo da revolução verde), IR36 e IR64, além de IRGA 417, cultivar de grande importância no Rio Grande do Sul. Já o grupo da subespécie *japonica* inclui variedades de arroz cultivadas em países de clima temperado e em condições tropicais. Alguns destes materiais são variedades tradicionais de cultivo de sequeiro coletadas no Brasil (ex. Chorinho, Puteca, Arroz Periquito).

O propósito da análise de uma amostra de acessos com a utilização dos painéis multiplex foi de testar a capacidade dos painéis em classificar os acessos dentro de seus grupos genéticos de origem (ex. subespécie *indica* ou *japonica*). Além disso, procurou-se estimar as distâncias genéticas entre esses genótipos, que possuem variabilidade para tolerância ao frio, à seca e à brusone, para definição de cruzamentos para o programa de melhoramento. Observou-se elevado índice de diversidade genética entre acessos reconhecidos como fonte de tolerância à seca, como Moroberekan, Azucena, Catetão, Ligeiro, Puteca e Chorinho. Da mesma forma, as fontes de tolerância a frio como Amaroo, Zenith, Farroupilha e Pratão e resistência à brusone, como Aichi Asahi, Popot 165, Trembese e Kassalath, também apresentam elevada diversidade genética, distribuídos em vários subgrupos dispersos no dendrograma (Figura 15).

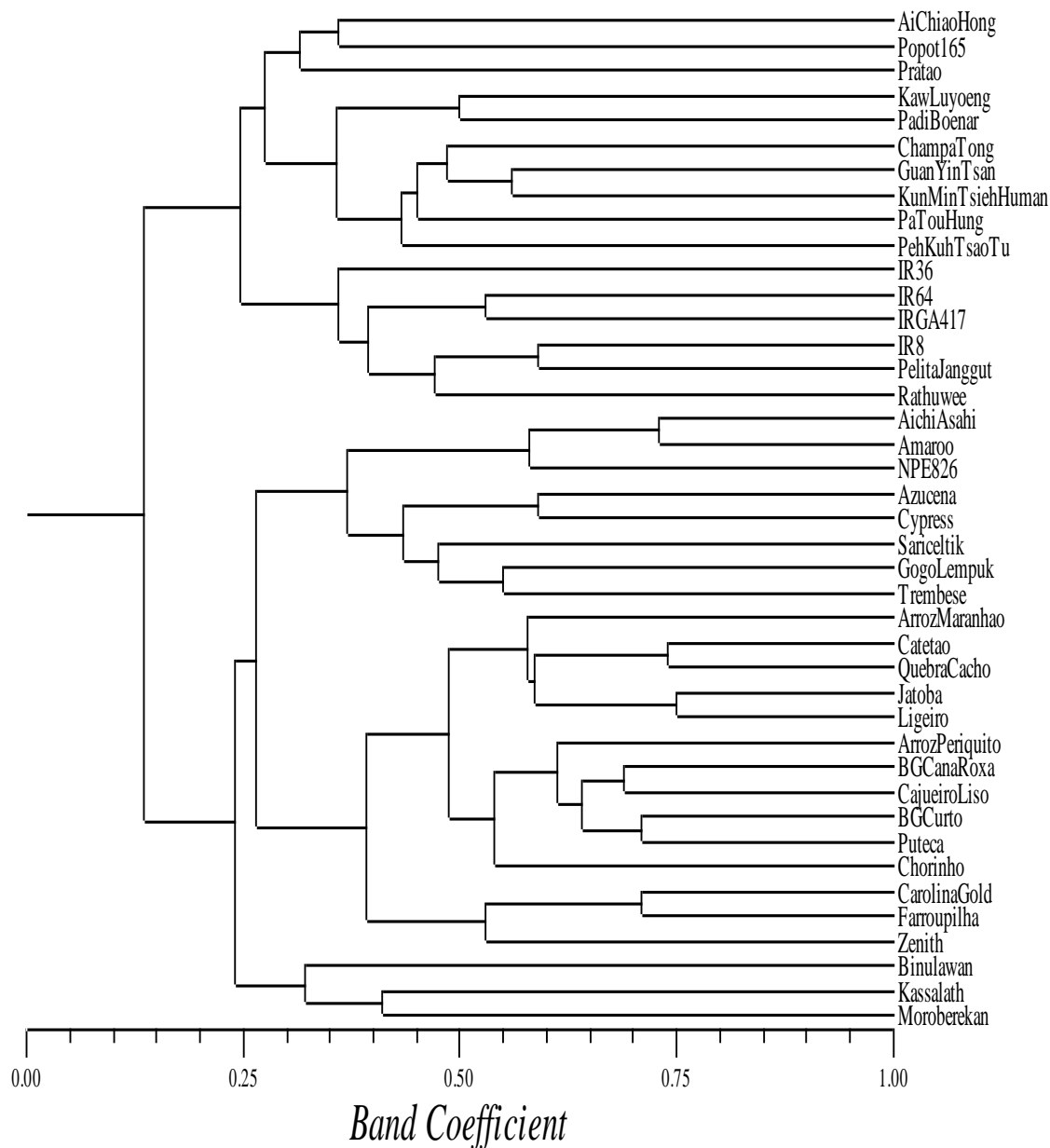


Figura 15 - Dendrograma de similaridade genética entre 41 acessos do Banco de Germoplasma baseados em 8 Painéis multiplex de marcadores microssatélites (Painéis D, E, F, G, H, I, N, O).

As estimativas de diversidade genética entre os acessos foram então utilizadas para selecionar cultivares de arroz para emprego em estudos de mapeamento de regiões do genoma associadas ao controle de tolerância à seca e ao frio. As cultivares Chorinho e Amaroo (subespécie *japonica*) foram cruzadas para a obtenção de linhagens puras recombinantes (RILs – *Recombinant Inbred Lines*) para mapeamento genético de QTLs

de tolerância ao frio (Capítulo 2). As cultivares Chorinho e Puteca (subespécie *japonica* tropical) foram cruzadas para a obtenção de linhagens puras recombinantes para mapeamento genético de QTLs de tolerância à seca (Capítulo 3).

1.5 CONCLUSÕES

- O processo de seleção de locos de marcadores microssatélites distribuídos no genoma de arroz foi eficiente na definição de marcadores potencialmente úteis em análise genética de arroz.
- A genotipagem de acessos do Banco de Germoplasma de Arroz com um conjunto de 441 marcadores microssatélites e a estimativa de parâmetros genéticos para cada marcador possibilitou a seleção de 41 marcadores para testes em sistemas de amplificação simultânea de alelos em ensaios de PCR.
- Ensaios laboratoriais permitiram o desenvolvimento de oito Painéis multiplex de locos microssatélites (Painéis D, E, F, G, H, I, N e O), com número de marcadores de amplificação simultânea variando entre 6 e 12 locos;
- As estimativas de valores combinados de Probabilidade de Exclusão e Probabilidade de Identidade para os painéis multiplex desenvolvidos indicam que os painéis são, individualmente ou em conjunto, eficientes na discriminação genética de acessos de arroz;
- O emprego de painéis multiplex em testes de identidade genética para a detecção de acessos duplicados na Coleção de Base de Arroz indica um nível de duplicação acima de 64% em acessos com mesma denominação na coleção;
Os painéis são eficientes para uso em estudos genéticos diversos, como demonstrado na estimativa do percentual de conversão do genoma em programa de retrocruzamento para resistência a herbicida;
- As estimativas de relações de vínculo genético entre acessos do Banco de Germoplasma de Arroz obtidas com diferentes grupos de amostras de acessos do Banco corroboram os parâmetros genéticos calculados para cada marcador;
- Os dados apresentados validam o emprego de Painéis de marcadores microssatélites no diagnóstico da qualidade genética de Coleções de Germoplasma.

CAPÍTULO 2

Mapeamento de QTLs para tolerância ao frio em linhagens puras recombinantes (RILs-F₇) derivada do cruzamento entre as variedades Chorinho x Amaro

2.1 JUSTIFICATIVA

O Brasil tem feito notável progresso no desenvolvimento de variedades de plantas adaptadas e produtivas em regiões tropicais. Este avanço tem sido responsável pelo crescimento contínuo do agronegócio brasileiro, com grande impacto no desenvolvimento da nossa economia. O arroz é amplamente cultivado em áreas tropicais, bem como em áreas temperadas ou subtropicais, onde o plantio de gramíneas pode sofrer a interferência significativa de frentes frias. O estresse causado por baixas temperaturas destaca-se especialmente na região sul do país. A busca de genótipos adaptados às condições de frio em períodos críticos de desenvolvimento das plantas, quando baixas temperaturas são ocasionadas por frentes frias, é uma preocupação comum aos programas de melhoramento genético, principalmente de gramíneas.

Durante o desenvolvimento da planta, como na germinação e no período de florescimento/enchimento dos grãos, as frentes frias rotineiramente observadas no sul e partes do sudeste e centro-oeste causam a diminuição de produtividade de culturas como o arroz. Considerando-se as gramíneas de importância econômica, o estresse abiótico pelo frio é um dos fatores que mais comprometem a produção de cereais e está sempre entre as grandes prioridades dos programas de melhoramento. Na Região Sul, responsável por mais de 65% do arroz produzido no Brasil, a tolerância ao frio é considerada uma característica de grande importância para o melhoramento genético do arroz.

A ocorrência de estresse de frio durante a germinação pode ocasionar problemas na densidade de plantas e, conseqüentemente, no estabelecimento da cultura. A ocorrência do frio nas fases mais tardias, como o florescimento, afeta diretamente a produtividade. Genótipos sensíveis que sofrem a incidência de baixas temperaturas durante poucos dias na fase de microsporogênese no florescimento podem ser induzidos

à macho esterilidade em mais de 80% das espiguetas (OKUNO, 2004). Se o estresse de frio coincidir com mais de uma fase sensível do desenvolvimento da cultura, o impacto na produtividade certamente será significativo.

É grande a dificuldade de avaliar o fenótipo de tolerância a frio no campo. Em princípio, não há como controlar a ocorrência e a intensidade de baixas temperaturas para a avaliação do fenótipo de tolerância ao frio. Outros fatores que também afetam o estresse causado pelo frio, como velocidade do vento e umidade do ar, também são de difícil controle em condições de campo. Há, portanto, grande dificuldade de coincidir os períodos de maior sensibilidade das plantas ao frio com a ocorrência de baixas temperaturas em experimentos de campo para a seleção de genótipos superiores. Não obstante, visando maximizar a possibilidade de avaliação do germoplasma para tolerância ao frio nas condições previstas, os programas de melhoramento buscam selecionar criteriosamente o local onde o experimento vai ser realizado com base na série histórica de dados meteorológicos da região. Desta forma, procura-se maximizar a chance de ocorrência de temperaturas baixas nos períodos nos estádios de desenvolvimento da planta que mais interferem na produtividade final da cultura. A dificuldade de avaliação fenotípica para tolerância ao frio tem sido um dos grandes obstáculos ao progresso no desenvolvimento de cultivares de arroz mais tolerantes a este estresse abiótico.

Tolerância ao frio é uma característica complexa, controlada por vários genes (KAW & KHUSH, 1986). Há indícios de correlação entre tolerância ao frio durante a germinação com tolerância durante o florescimento (ROSSO, 1996). É importante, pois, compreender a atuação dos genes de tolerância expressos nos diferentes estádios de desenvolvimento, o que pode contribuir para aumentar a eficiência de seleção de genótipos superiores pelos programas de melhoramento. A identificação de regiões genômicas associadas ao controle de tolerância ao frio pode ser relevante para auxiliar a seleção indireta para a característica, em programas de seleção assistida por marcadores moleculares. A combinação de dados de mapeamento de QTLs e de informação de seqüências genômicas em bancos de dados pode ainda auxiliar a identificação de genes candidatos ao controle de tolerância ao frio em arroz. O emprego de seleção assistida para características de difícil avaliação fenotípica tem sido a vertente de maior aplicação

prática de marcadores moleculares na seleção de características complexas pelos programas de melhoramento genético.

Neste Capítulo, descreve-se o emprego de uma população de Linhagens Puras Recombinantes (Recombinant Inbred Lines – RILs) derivada do cruzamento entre as cultivares Chorinho e Amaro (*japonica* tropical x *japonica* temperado) para mapear regiões do genoma de arroz que controlam a tolerância ao frio. Para isto, foi construído um mapa genético baseado em marcadores microssatélites e mapeados QTLs (*Quantitative Trait Loci*) de características fenotípicas mensuradas em ambiente controlado e em condições de campo sob condição de estresse de frio.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Material Biológico: População de Linhagens Puras Recombinantes de Arroz (RIL - Recombinant Inbred Lines) – A população CNA 13218, constituída por linhagens puras recombinantes (geração F₇) derivadas do cruzamento entre as cultivares Chorinho e Amaro (RIL Chorinho x Amaro) foi utilizada para identificar regiões genômicas associadas ao controle de tolerância ao frio em arroz. A variedade tradicional brasileira Chorinho (CA800103) pertencente à subespécie *japonica* tropical, foi coletada pelo sistema de conservação de recursos genéticos da Embrapa sob cultivo de sequeiro em Minas Gerais. Esta cultivar é suscetível ao frio. A cultivar Amaro, pertencente à subespécie *japonica*, é originária da Austrália, onde é cultivada sob o modo de produção irrigado em região temperada. Esta cultivar apresenta tolerância ao frio quando comparada com outros genótipos australianos (WILLIANS & WENSING, 1997). A cultivar Amaro chegou a ser utilizada em 60% da área plantada na Austrália (McDONALD, 1994) e é considerada o tipo padrão de arroz para a indústria naquele país, com alta produtividade e qualidade de grãos, e com elevada alelopatia no controle de ervas daninhas (SEAL *et al.*, 2005). Por ser um material sensível ao fotoperíodo, é promissora na exploração da estratégia de escape ao estresse em períodos críticos, além de apresentar uso mais eficiente da água pelo encurtamento do período vegetativo até a sua floração (FARREL, 2002).

No presente estudo, foram usadas 186 linhagens puras recombinantes obtidas por sucessivas autofecundações de plantas F₁ originadas do cruzamento de um indivíduo da cultivar Chorinho com um indivíduo da cultivar Amaro. Os cruzamentos foram realizados na Embrapa Arroz e Feijão (Santo Antônio de Goiás – GO), onde as sementes F₂ foram avançadas até a geração F₇. A metodologia utilizada foi a de descendência única por planta (*SSD – Single Seed Descendent*) descrita por Brim (1966), onde uma semente de cada planta de geração F₂, escolhida ao acaso, foi semeada em vaso e as gerações avançadas por autofecundação até a geração F₆. As sementes em F₆ foram multiplicadas para a obtenção de um número maior de sementes F₆:7 para a condução dos experimentos de fenotipagem, em que testou-se a segregação esperada nas linhagens de 1:1 entre os alelos doados pelos acessos Chorinho e Amaro.

2.2.3 Extração de DNA

Para a extração de DNA de acessos de arroz usados neste estudo, aproximadamente 150 mg de folhas de plântulas de arroz germinadas em placas de Petri foram utilizadas para a extração de ácidos nucléicos baseada no protocolo CTAB (FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1998). As amostras de folhas foram pulverizadas em máquina “FastPrep” BIO101 com o uso de esferas de cerâmica juntamente com 700 µL de tampão CTAB 2X (2% acetyldimethyl tiethylammonium bromide – CTAB, 1,4 M NaCl, 20 mM EDTA, 100 mM Tris-HCl pH=8,0 1% polyvinylpyrrolidone, 0,2% 2-mercaptoethanol). As amostras foram incubadas por 50 min a 65°C para a solubilização e homogeneização da suspensão, com agitação a cada 10 min. Com as amostras em temperatura ambiente, foi adicionado 600 µL de clorofórmio-álcool isoamílico (24:1) à cada amostra e centrifugação a 11.000 rpm durante 10 min. O sobrenadante foi transferido para um novo tubo e os ácidos nucléicos foram precipitados com 400 µL de isopropanol. Foi obtido o precipitado (“pellet”) após centrifugação a 11.000 rpm durante 15 min, que foi lavado duas vezes com 500 µL de etanol 70% e secado “overnight” a temperatura ambiente. Os “pellets” foram eluídos com tampão TE (10mM Tris-HCl, pH=8,0, 1 mM EDTA) e tratados com RNase (10mg/mL) para degradação do RNA por três horas a temperatura ambiente. A concentração de DNA foi estimada em eletroforese em gel de agarose 1% contendo brometo de etídeo (0,15 µg/mL) (Sambrook *et al.*, 1989), utilizando padrões de 100 e 200 ng. O DNA para reação de

polimerase em cadeia foi diluído em água MilliQ para uma concentração final de 2ng/μL.

2.2.4 PCR e análise de fragmentos de marcadores microssatélites de arroz

Um conjunto de 441 marcadores microssatélites, marcados com três diferentes fluorocromos (6-FAM-azul, HEX-verde e NED-amarelo) e descritos no Capítulo I, foi primeiramente avaliado com o software Multiplexer (COELHO, A., UFG, não publicado) para a formação de conjuntos de locos em triplex para a identificação de marcadores polimórficos entre as cultivares parentais Chorinho e Amaro. Esta análise minimizou o número de reações, possibilitando a avaliação de um número significativo de marcadores para uso em PCRs simultâneos.

Os marcadores em painel triplex foram testados na genotipagem de uma amostra de 28 acessos do Banco de Germoplasma de Arroz, constituída por cultivares, linhagens e variedades tradicionais cultivadas em sistemas de produção de arroz irrigado e de sequeiro, incluindo as cultivares Chorinho e Amaro (Capítulo I, Tabela 1). Os marcadores que detectavam polimorfismo de sequência de DNA entre as cultivares Chorinho e Amaro foram selecionados para genotipagem da população RIL. O DNA extraído de cada acesso seguiu o protocolo descrito anteriormente. As amplificações de cada painel triplex foram realizadas em um volume total de reação de 6 μL, utilizando-se 4 ng de DNA, tampão 1X (10 mM Tris/HCl pH 8,3 50mM de KCl), dNTP 0,4 mM, BSA 0,2 μg/μl, MgCl₂ 1,5 mM, *Taq* polimerase 2U (Phoneutria, Belo Horizonte-MG) e água milliQ autoclavada.

As concentrações dos iniciadores no volume final de reação foram 0,13 μM (6-Fam e Ned) e 0,26 μM (Hex). As reações de amplificação foram feitas em placas de PCR para 384 amostras em termociclador GeneAmp PCR System 9700 (Perkin-Elmer), com bloco para duas placas de 384. O seguinte programa de termociclador foi usado para a amplificação de produtos de PCR: (1) 94°C por 5 min, (2) 94°C por 1 min (3) 52°C-67°C por 1min, conforme temperatura de anelamento do iniciador (4) 65°C por 2 min, (5) passos 2, 3 e 4 por 30 vezes e (6) 65°C por 7 min.

A detecção dos fragmentos amplificados foi realizada em seqüenciadores automáticos de DNA modelos ABI Prism 377 e ABI 3700. O carregamento dos géis no seqüenciador ABI Prism 377 empregou uma alíquota de 2 µl de produto de PCR misturada com 2 µl de mix (1 µl de tampão de carregamento -98% formamida, 10 mM EDTA-blue dextran- e 1 µl de um marcador padrão de tamanho conhecido produzido no próprio laboratório (Brondani & Grattapaglia, 2001)). A reação foi desnaturada por 5 min em termociclador ABI 9700 e uma alíquota de ≈ 3 µl de amostras carregada em géis de poliacrilamida “Long Ranger” a 4% em tampão TBE 1X. No seqüenciador ABI 3700 os fragmentos de DNA foram detectados com base em alíquotas de 1 µl de produto de PCR diluídas 5x, seguida da adição de um volume total de 9 µl de mix (8 µl de HIDI com 0,35 µl de marcador padrão e 0,65 µl de ddH₂O), desnaturadas por 5 minutos. Os produtos foram eletroinjetados em seqüenciador automático de DNA (ABI 3700, Applied Biosystems) e utilizado o filtro D para captação da emissão das fluorescências. As eletroforeses foram realizadas a 3.000 V por aproximadamente 2h30 min.

2.2.5 Avaliação da população F2 resultante do cruzamento Chorinho x Amaro

A geração F2, derivada do cruzamento entre Chorinho x Amaro, foi analisada com marcadores microssatélites para confirmar a origem do cruzamento e corroborar a segregação Mendeliana esperada para os alelos observados nas cultivares parentais em cada loco. Doze locos microssatélites distribuídos em dois painéis multiplex foram empregados nesta análise, o painel “A” desenvolvido por PESSOA-FILHO et al.(2008) e painel “D” desenvolvido no Capítulo I.

2.2.6 Genotipagem da população RIL Chorinho x Amaro com marcadores microssatélites

Marcadores microssatélites que detectaram polimorfismo de DNA entre as cultivares Chorinho e Amaro foram organizados em painéis triplexes e utilizados na genotipagem da população RIL Chorinho x Amaro através de eletroforese em gel de poliacrilamida no seqüenciador automático de DNA ABI 377. As reações de

amplificação utilizaram volume total de reação de 6 μL , utilizando-se 2 ng de DNA, tampão 1X (10 mM Tris/HCl pH 8,3 50mM de KCl), dNTP 0,4 mM, BSA 0,2 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, MgCl_2 1,5 mM, Taq polimerase 2 U (Phoneutria, Belo Horizonte-MG) e água milliQ autoclavada. As concentrações dos iniciadores variaram entre 0,13 μM (6-Fam), 0,13 μM (Ned) e de 0,26 μM (Hex). As reações de amplificação foram feitas em termociclador GeneAmp PCR System 9700 (Perkin-Elmer), usando-se o seguinte programa: (1) 94°C por 5 min, (2) 94°C por 1 min (3) 52°C -56°C por 1min (4) 65°C por 2 min, (5) passos 2, 3 e 4 por 30 vezes e (6) 65°C por 7 min. As temperaturas de anelamento utilizadas foram baseadas nas informações de cada marcador que variaram de 50 a 67°C. Dois microlitros de produto amplificado foi misturado com 2 μL da combinação (1,3:0,7) de tampão (formamida, EDTA 10mM e blue dextran) com padrão interno de tamanho conhecido com 12 fragmentos - PSport, desenvolvido por Grattapaglia (2007-comunicado pessoal), seguida de desnaturação a 95°C por 5 min. Alíquotas de 3 μL de cada amostra foram colocadas em bandeja (Gel Company- 96 well) com auxílio de seringa multicanal (Kloehn- 8 agulhas) e capturadas com pente de membrana da Gel Company de 96 dentes para corridas em gel de agarose 4%, com tampão TBE 1X em seqüenciador automático de DNA ABI Prism 377, utilizando filtro D em 2 h de eletroforese. Os fragmentos foram analisados e genotipados nos programas da Applied Biosystems - GeneScan (versão 3.1.2) e Genotyper (versão 2.5.2), respectivamente.

2.3 Construção de mapa de ligação

Para a construção do mapa de ligação, foram testados em cada loco os desvios das proporções esperadas 1:1 na segregação de alelos de Chorinho e Amaroo na população de linhagens RIL com o uso do programa WinQTLCart (v.2.5- 2001\2007). O teste de FDR, ou razão de falsas descobertas, foi utilizado como critério de ajuste para correção de erro do tipo I (BENJAMINI & HOCHBERG, 1995), e o nível de significância para os testes de distorção de segregação foi de 1%, após correção de Bonferroni. Foram considerados para análise de ligação apenas os marcadores com menos de 20% de dados faltantes. Para análise de ligação entre locos de marcadores moleculares, empregou-se um valor mínimo de LOD = 3,0 no programa MAPMAKER para MacIntosh versão 2.0

(LANDER *et al.* 1987), que consiste em utilizar a estatística de verossimilhança convertida para o logaritmo na base 10, indicando que a ligação entre locos é 1.000 (10^3) vezes mais verossímil que a hipótese de segregação independente. Para a determinação da posição dos locos nos grupos de ligação utilizou-se o programa MAPMAKER para MacIntosh versão 2.0 (LANDER *et al.* 1987). A distribuição dos locos ao longo dos 12 cromossomos de arroz foi confirmada através da sequência dos marcadores do mapa físico do genoma de arroz, com base no banco de dados disponibilizado pelo portal Gramene (<http://www.gramene.org/>) (JAISWAL, *et al.*, 2006). A frequência de recombinação máxima empregada foi 0,35 ($r_0 = 0,35$). As frequências de recombinação foram convertidas em distâncias de mapa utilizando-se a função de mapeamento de KOSAMBI (1944), que leva em consideração a interferência (I) na recombinação quando é feita análise de três pontos. As distâncias do mapeamento foram expressas em cM (centiMorgan = 0,01 Morgan), que equivale à distância de mapa entre dois locos em que se espera que ocorra uma permuta por gameta por geração (WEIR, 1996). Os grupos de ligação detectados foram nomeados de acordo com os cromossomos do genoma do arroz, a partir da sua co-localização com o mapa físico disponível para a espécie (<http://www.gramene.org/>).

2.4 Avaliação fenotípica

2.4.1 Avaliação da população RIL Chorinho x Amaroo para tolerância ao frio em condições de campo

Para maximizar a oportunidade de coincidência de incidência de frio com o período de florescimento das plantas da população RIL Chorinho x Amaroo no campo, a época de plantio e transplante foi baseada nos dados históricos de temperatura coletados pela Epagri – Estação Experimental de Itajaí ao longo de vários anos na região. O plantio do experimento foi realizado no dia 15/02/2008 e o transplante para o campo no dia 26/02/2008, na Estação Experimental da Epagri em Itajaí – SC. Foram plantadas 194 linhagens puras recombinantes (RILs) da população CNA13218, além das linhagens parentais Chorinho e Amaroo. O desenho experimental foi o delineamento blocos ao acaso, com 3 repetições, com plantio de 80 sementes de arroz

por metro linear. Cada parcela foi constituída de quatro linhas com três metros de comprimento e área útil de 1,8 m² por parcela.

As avaliações para tolerância ao frio ocorreram em dois momentos:

- (a) no estágio reprodutivo das plantas, quando foi avaliada a Viabilidade do Pólen, coletado nas linhagens da população RIL Chorinho x Amaroo;
- (b) ao final do ciclo, quando foram avaliados os componentes de produtividade das mesmas linhagens.

A característica Viabilidade de Pólen (VP) foi estimada em cada parcela coletando-se cinco panículas ao acaso com no mínimo 10 espiguetas fechadas cada. A coleta de amostras foi realizada em dias intercalados, uma vez que a maturação do pólen ocorre em momentos distintos, em um gradiente do ápice para a base da panícula (CHATEL, 1995). As panículas coletadas foram colocadas em tubo Falcon de 15mL e fixadas em álcool 70%. Os tubos foram conservados a 4° C até a finalização dos trabalhos de avaliação da viabilidade de pólen por microscopia ótica.

Na análise de viabilidade de pólen foram utilizadas duas espiguetas da extremidade de cada uma das cinco panículas coletadas de cada parcela, com o objetivo de uniformizar o ponto de maturação do pólen. Como cada espiguetas possui seis anteras, foram utilizadas 60 anteras por parcela na análise. Com auxílio de lupa e pinça, as espiguetas foram abertas para a liberação das anteras. Estas foram maceradas com bisturi sobre uma lâmina de vidro previamente demarcada com seis campos de contagem, contendo o corante iodeto de potássio iodado (lugol 1%) e glicerina (1:1), até que fossem liberados todos os grãos de pólen. O uso de corante iodeto de potássio iodado em grãos de pólen de arroz é recomendado porque é específico para coloração de grãos de pólen com elevados teores de amido. O excesso de tecidos das anteras foi retirado da lâmina de vidro com o auxílio de pinças e os grãos de pólen misturados e espalhados sobre a lâmina com auxílio de uma agulha. Em seguida, uma lamínula (18x40mm) foi colocada sobre a suspensão de grãos de pólen. As lâminas preparadas foram mantidas na temperatura ambiente por pelo menos 3 horas até o início da contagem dos grãos de pólen em microscópio ótico. Os grãos de pólen redondos e corados de marrom escuro foram registrados como férteis e os grãos de pólen amarelos ou com deformidades foram registrados como estéreis. Foram realizadas três leituras

por lâmina, e contados aproximadamente 180 grãos de pólen por leitura, totalizando, portanto, aproximadamente 500 grãos de pólen por parcela. Este trabalho demanda aproximadamente 12 h de trabalhos diários para a mantagem e contagem de aproximadamente 30 lâminas por dia. Por fim foram contabilizados os percentuais de grãos de pólen viáveis e inviáveis de cada linhagem pura recombinante e das cultivares parentais.

A característica tolerância ao frio também foi analisada no final do ciclo da cultura, quando foram avaliados ainda os seguintes componentes de produtividade:

- (a) Peso Total de Panícula na parcela (PTP) em gramas (g);
- (b) Peso Parcial de Panícula na Parcela (PPP) em gramas (g), que é o peso da parcela após a subtração do peso das panículas retiradas para análise de viabilidade de pólen;
- (c) Produtividade Parcial (KgPPP) em kg/ha, estimada com base nos valores de peso parcial das parcelas extrapolados para hectare;
- (d) Produtividade Total (KgPTP) em Kg/ha, estimada com base nos valores de peso total das parcelas extrapolados para hectare;
- (e) Número de Grãos Cheios (NGC);
- (f) Peso de Grãos Cheios (PGC) (g);
- (g) Número de Grãos Vazios (NGV)
- (h) Peso de Grãos Vazios (PGV) (g).

Os dados dos componentes de produtividade foram estimados com base em dez plantas de cada uma das três linhas de cada parcela, totalizando 30 plantas por parcela. Para os parâmetros de peso foi considerado o percentual de umidade de semente de 13% e os valores extrapolados para hectare (10.000 m²).

2.4.2 Avaliação da população RIL Chorinho x Amaroo para tolerância ao frio em condições controladas

O experimento de avaliação de tolerância ao frio em condições controladas foi realizado em uma câmara fria instalada no Laboratório de Genética da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. Inicialmente, sementes de cada uma

das 175 linhagens da população RIL Chorinho x Amaro, além das cultivares parentais, foram pré-germinadas em placas de Petri. Após a pré-germinação, selecionou-se 10 plântulas de cada acesso no mesmo estágio de desenvolvimento, caracterizado pelo rompimento da casca da semente pela radícula e emissão do sistema radicular. As plântulas pré-germinadas foram então submetidas a tratamentos para avaliar o efeito do estresse de frio na Germinação das Plântulas e o efeito do estresse de frio na Capacidade de Recuperação do Crescimento da Plântula.

O experimento foi montado em um Delineamento de Blocos Casualizados no tempo, com três repetições. Para avaliar o efeito do estresse de frio na Germinação das Plântulas, placas de Petri com papel filtro umedecido contendo 10 sementes pré-germinadas de cada linhagem foram colocadas em câmara fria a 14 °C por 72h com fotoperíodo de 12/12h. A germinação das sementes não é uniforme entre as linhagens, portanto é importante um elevado controle na sincronia da submissão das linhagens aos tratamentos. Como tratamento controle, outras placas de Petri contendo 10 sementes pré-germinadas de cada linhagem foram mantidas em câmara com temperatura ajustada a 25 °C, por um período de 72 h, fotoperíodo de 12/12h. Após 72 h de estresse em câmara fria e na condição controle, o crescimento radicular e de parte aérea observado durante a germinação de 10 plantas de cada acesso em cada tratamento foi avaliado. Para isto, imagens das plântulas foram obtidas com um *scanner Epson Perfection-4990PHOTO*, com parâmetros de 150 dpi e 24 bit color em extensão “.tif”, em tamanho real. As imagens foram utilizadas para estimar dez parâmetros com valores da medida tomada no ambiente sob estresse de frio e o valor da medida tomada no ambiente controle.

Os seguintes parâmetros foram computados:

- (a) Comprimento de Raiz - Comp (cm);
- (b) Área Projetada de Raiz - ArPr (cm²). A área projetada de raiz é a área ocupada pela raiz na imagem escaneada (bidimensional), referente à quantidade de pixels da raiz em relação ao *background*.
- (c) Área Superficial de Raiz - ArSu (cm²). A área superficial de raiz é a área real ocupada pela raiz (tridimensional), em contato com o solo.
- (d) Diâmetro Médio de Raiz - DiaM (mm);
- (e) Volume de Raiz - Vol (cm³);
- (f) Comprimento de Parte Aérea – Comp (cm);

- (g) Área Projetada de Parte Aérea - ArPr (cm²). A área projetada de parte aérea é a área ocupada pela parte aérea na imagem escaneada (bidimensional), referente à quantidade de pixels da parte aérea em relação ao *background*;
- (h) Área Superficial de Parte Aérea - ArSu (cm²). A área superficial de parte aérea é a área real ocupada pela parte aérea da plântula.
- (i) Diâmetro Médio de Parte Aérea - DiaM (mm);
- (j) Volume de Parte Aérea - Vol (cm³);

As estimativas acima foram obtidas com base nos algoritmos empregados pelo programa WinRHIZO (2008a). Para isto, foi realizada uma definição prévia de classes de cores para análise em *background* azul de cada foto obtida. WinRHIZO opera na plataforma Windows e utiliza o método conhecido como “esqueletonização” (referente ao “esqueleto” do objeto medido) para estimar parâmetros radiculares e foliares (HIMMELBAUER *et al.*, 2004). O programa opera com 2, 256 ou 65.536 níveis de imagens em cinza (1, 8 ou 16 bits/pixel) ou milhões de cores (24 bits/pixel) na forma de arquivo TIFF, que são convertidas em imagens binárias. Estas imagens são usadas para conversão de pixels em medidas, separando o padrão de “background”, ajustado pelo algoritmo do programa, das tonalidades referentes ao objeto mensurado (raiz e parte aérea). A distinção de tonalidades permite ainda o cômputo de áreas sobrepostas.

Na avaliação da Capacidade de Recuperação de Crescimento da Plântula sob estresse de frio, um segundo conjunto de placas de Petri contendo linhagens pré-germinadas, que haviam sido inicialmente submetidas ao mesmo estresse por frio foram transferidas para um ambiente de casa de vegetação a 25 °C por mais 72h, juntamente com um conjunto de placas mantidas sob condição controle. Ao final deste período, as placas dos experimentos foram mantidas em geladeira, com o objetivo de inibir o crescimento das plantas até o momento da finalização dos trabalhos de digitalização das imagens. Esta fase do trabalho demanda aproximadamente 8 h diárias para a digitalização de 100 placas contendo 10 plântulas cada. Foram realizadas avaliações do crescimento radicular e de parte aérea de 10 plântulas de cada linhagem nesta nova condição, utilizando imagens escaneadas e o software WinRHIZO para as mensurações, conforme descrito anteriormente. As imagens foram utilizadas para estimar, nesta condição, o dez parâmetros relativos listados acima, através subtração do valor da medida tomada na casa de vegetação e o valor da medida tomada sob estresse de frio 72

h antes na câmara fria, segundo a expressão: Valor Estimado = (Medida em Casa de Vegetação – Medida sob Frio). Os seguintes parâmetros foram computados:

- (a) Comprimento de Raiz - Comp (cm);
- (b) Área Projetada de Raiz - ArCr (cm²);
- (c) Área Superficial de Raiz - ArSu (cm²);
- (d) Diâmetro Médio de Raiz - DiaM (mm);
- (e) Volume de Raiz - Vol (cm³);
- (f) Comprimento de Parte Aérea - Comp (cm);
- (g) Área Projetada de Parte Aérea - ArCr (cm²);
- (h) Área Superficial de Parte Aérea - ArSu (cm²);
- (i) Diâmetro Médio de Parte Aérea - DiaM (mm);
- (j) Volume de Parte Aérea - Vol (cm³);

As estimativas acima foram obtidas com base nos algoritmos empregados pelo programa WinRHIZO (2008a), conforme descrito anteriormente. O experimento foi repetido três vezes. O desenvolvimento deste trabalho

2.4.3 Análise estatística dos dados fenotípicos de tolerância ao frio coletados no campo e em condições controladas

Os resíduos da ANOVA dos experimentos realizados no campo e em condições controladas foram plotados em planilha eletrônica excel para verificação de dados espúrios. Os valores filtrados foram analisados com o programa IRRISTAT for Windows V. 5.0 (IRRI, 1998-2005 - Philippines) para o cálculo dos valores médios de cada variável analisada, utilizando as linhagens como efeito aleatório. Os valores médios das variáveis sob condição de estresse de frio a campo e em condições controladas foram estimados pelo programa IRRISTAT, e posteriormente utilizados nos estudos visando a detecção de QTLs de tolerância ao frio.

As análises de variância (ANOVA) dos dados dos experimentos de campo e em condições controladas foram realizadas com a utilização do Programa SAS (1999-2000; SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.) pelo método linear (GLM). As análises de

correlação entre as características foram realizadas através do programa Genes (CRUZ, 2004).

Foram realizadas ainda estimativas descritivas e análises de variância das características fenotípicas com o programa GENES (CRUZ, 2006). Foram estimadas as médias, variâncias, desvios-padrão, coeficientes de variação, máximo e mínimo da linhagem de cada característica analisada. Também foram estimadas a diferença mínima significativa de médias segundo o teste de Tukey. Cada característica foi tratada de forma independente na análise de variância. Também foram obtidas as estimativas de coeficiente de correlações simples de Pearson. A normalidade das distribuições fenotípicas foi testada pelos testes de simetria e curtose, base nos valores médios das características.

2.4.5 Mapeamento de QTLs de tolerância ao frio

O programa MAPMAKER versão 3.0b para PC foi utilizado para a construção do mapa genético e geração do arquivo de entrada para análise de QTL no programa WinQTLCart (v.2.5- 2001\2007), utilizado na localização dos QTLs de tolerância ao frio no campo e em condições controladas.

Análise de dados categóricos – A detecção de QTLs associados a Viabilidade de Pólen com base na população RIL Chorinho x Amaro baseou-se em uma análise de dados categóricos (pólen viável/pólen inviável) e distribuição contínua (% de pólen viável em cada RIL – veja a seguir). Os dados categóricos foram submetidos a testes de independência genótipo/fenótipo empregando tabelas de contingência 2x2. Os valores de significância foram estimados com base em testes qui-quadrado (corrigidos para continuidade pela fórmula de Yates) e testes exatos de Fisher. O ponto de corte para definição das duas classes fenotípicas de Viabilidade de Pólen foi 62,4%, isto é, o valor médio de fertilidade de pólen na população foi considerado como referência para classificar uma RIL como produtora de pólen mais fértil ou menos fértil após o estresse de frio no campo.

O teste de qui-quadrado com a correção de continuidade de Yates (OVERALL, 1990) é adequado quando uma ou mais classes em uma tabela de contingência 2x2 possui um número pequeno de amostras. Nesta situação, o experimento fere a premissa de que a probabilidade das frequências observadas dos dados discretos tem uma distribuição qui-quadrado, que é contínua. O qui-quadrado (Yates) ajusta a continuidade da distribuição com a seguinte equação:

$$\chi_{\text{Yates}}^2 = \sum_{i=1}^N \frac{(|O_i - E_i| - 0.5)^2}{E_i}$$

Onde,

N = número de eventos

O_i=frequência observada de eventos

E_i=frequência esperada de eventos

O teste exato de Fisher, indicado para análise de dados categóricos quando o tamanho das amostras em diferentes classes é pequeno, também foi utilizado na análise de associação entre marcadores microssatélites e Viabilidade de Pólen. O teste é exato e não-paramétrico. A equação é a seguinte:

$$p = \frac{\binom{a+b}{a} \binom{c+d}{c}}{\binom{n}{a+c}} = \frac{(a+b)!(c+d)!(a+c)!(b+d)!}{n!a!b!c!d!}$$

Onde a, b, c e d representam os valores distribuídos em cada um dos quadrantes da tabela de contingência 2x2. Estas análises foram realizadas com os marcadores microssatélites cujos alelos segregam na população RIL do cruzamento Chorinho x Amaro, com o objetivo de avaliar diretamente a associação destes locos com Viabilidade de Pólen em condições de campo, utilizando o software Excel.

Análise de dados contínuos – os dados fenotípicos coletados a campo (incluindo Viabilidade de Pólen analisado como variável contínua) foram inicialmente considerados para a detecção de associação com marcadores moleculares através da

análise de Marca Simples pelo método de regressão linear simples, utilizando o programa WinQTLCartographer (WANG *et al.*, 2005). Em seguida, análises de Mapeamento de Intervalo Composto (JANSEN, 1993; ZENG, 1993) foram realizadas com o programa WinQTLCartographer. Para determinar a significância estatística na detecção de QTLs foi estimado o valor de LOD mínimo de cada característica analisada através de testes de permutação (1.000 permutações; nível de significância de 0,05) (CHURCHILL & DOERGE, 1994; DOERGE & CHURCHILL, 1996). Os parâmetros de análise de Mapeamento de Intervalo Composto foram os referentes ao Modelo 6 no programa (*forward regression method*, três, cinco, oito e dez marcadores controle, janela de 10 cM).

2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A incidência do frio no período de germinação das sementes de arroz é um obstáculo importante no estabelecimento das plantas no campo, levando a perdas na produção. A incidência de frio no período reprodutivo, considerado o mais sensível dos estádios de desenvolvimento da planta a este estresse, causa perdas significativas de rendimento de grãos. O presente trabalho teve por objetivo mapear regiões do genoma do arroz associadas ao controle de tolerância ao frio no estágio de germinação de sementes e no estágio reprodutivo da planta de arroz.

3.1 Genotipagem da população RIL Chorinho x Amaro

Quatrocentos e quarenta e um locos microssatélites foram testados para identificação de polimorfismo entre os parentais das linhagens RILs. Deste total, 169 (37%) apresentaram polimorfismo e boa amplificação nas linhagens e cultivares parentais. Uma amostra de indivíduos da população F2 derivada do cruzamento entre as cultivares Chorinho e Amaro foi analisada para testar se os alelos observados nos locos marcadores correspondiam aos alelos esperados (alelos de Chorinho e de Amaro), bem como se a segregação ocorria de acordo com o esperado em uma população F2 (1:2:1). A Figura 16 ilustra o teste realizado, que confirmou o esperado.

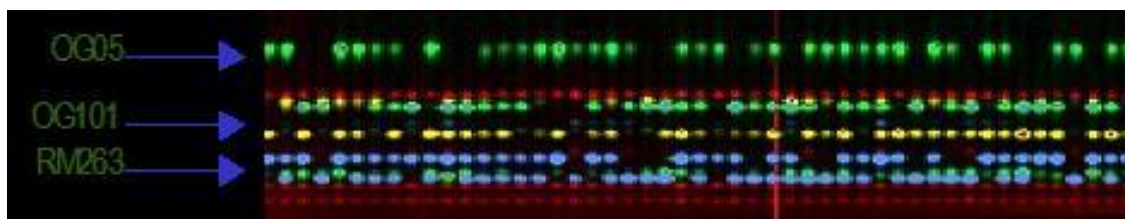


Figura 16 - Separação de produtos de PCR através de eletroforese em sequenciador automático (ABI 377). Uma amostra de 50 indivíduos F2 do cruzamento entre Chorinho e Amaro foi analisada com três marcadores microssatélites marcados com diferentes fluorescências (verde, azul e amarelo) em sistema multiplex. O marcador de tamanho de fragmento conhecido (Rox) é visualizado em vermelho.

Na população RIL Chorinho x Amaro foram analisados 56 trios (triplexes) de marcadores microssatélites, totalizando 168 locos distribuídos no genoma. A segregação

mendeliana esperada para os marcadores microssatélites na população RIL Chorinho x Amaro foi de 1:1. A distorção da segregação Mendeliana a 5% pelo teste do χ^2 ocorreu em apenas 12 marcadores (RM1, RM3412, RM154, RM7033, RM335, RM7504, OSR19, RM225, RM7338, RM11, RM234). Nenhum marcador apresentou distorção após correção de Bonferroni. Foram observadas linhagens com resíduos de heterozigose em 3,44% da população analisada. Em 8 linhagens os alelos diferiram dos esperados pela análise dos parentais em pelo menos três locos. Para simplificação do estudo, estes genótipos foram retirados das análises (Figura 17).

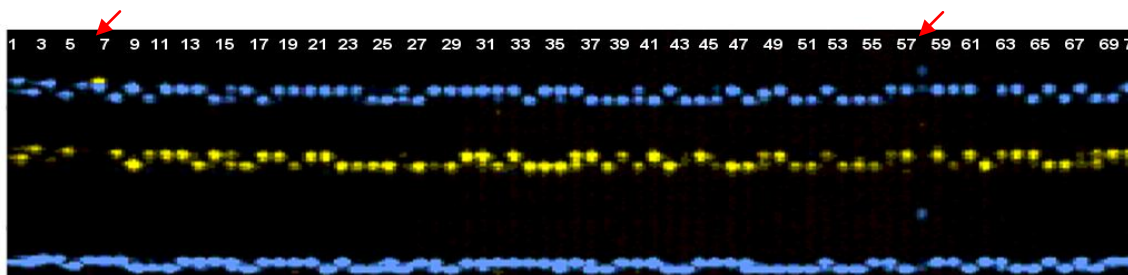


Figura 17. Imagem em gel de poliacrilamida (4%) com amplificadas de regiões microssatélites de linhagens puras recombinantes – RILs. Linhagens contaminantes (254 e 311) nas pistas 6 e 58 para os locos RM222 (6-FAM 197-203pb), RM235 (6-FAM 94 e 98 pb) e RM481 (Ned 172-178 pb). Indivíduos heterozigotos nas pistas 14, 25, 40 e 69.

2.7 Construção de mapa genético com base na população RIL Chorinho x Amaro

Na construção do mapa de ligação baseado na população RIL Chorinho x Amaro foram utilizadas 160 linhagens puras recombinantes e 158 marcadores, utilizando um valor mínimo de LOD 3,0 e fração máxima de recombinação de 0,35. Um total de 135 locos de marcadores microssatélites foi agrupado em 12 grupos de ligação que correspondem aos 12 cromossomos da espécie. Os cromossomos com maior saturação de marcadores foram os cromossomos 1 (18 marcadores) e o cromossomo 7 (20 marcadores). O cromossomo com o menor número de marcadores foi o cromossomo 12 (4 marcadores) (Figura 18). Vinte e três marcadores não foram mapeados provavelmente porque mapeam em regiões pouco densas em marcadores e não foi possível calcular suas distâncias de outros marcadores por não atenderem às premissas básicas do modelo de mapeamento (ex., fração máxima de recombinação de 0,35). Não obstante, estes marcadores foram usados na detecção de QTLs em análises de Marcas Simples. O comprimento total do mapa construído foi 1.278 cM.

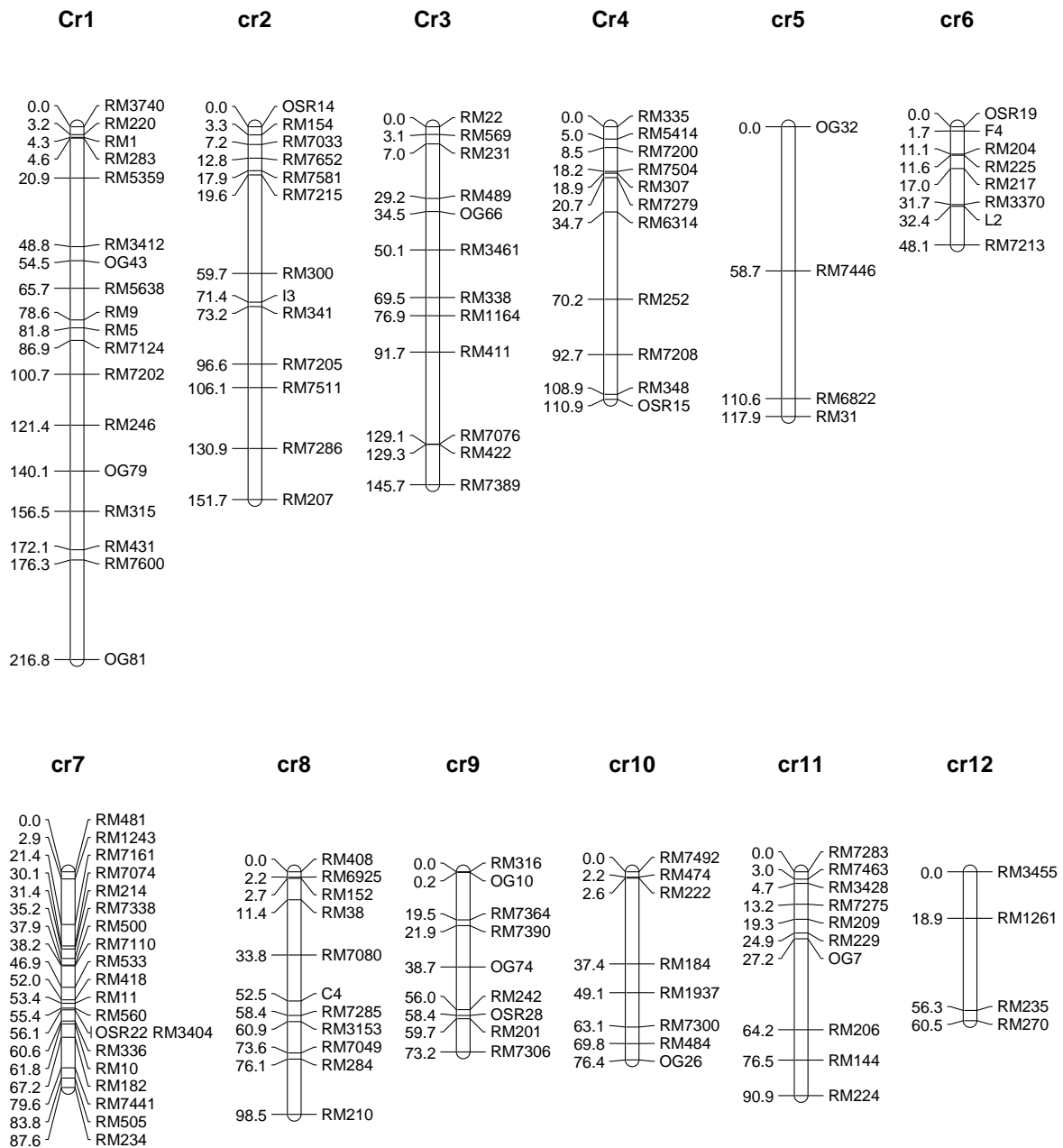


Figura 18 - Mapa genético de *Oryza sativa* baseado na população RIL Chorinho x Amaro. O mapa é composto de 135 marcadores microssatélites distribuídos em 12 cromossomos. Em cada representação cromossômica, a distância de mapa é expressa em cM à esquerda, com os locos de marcadores microssatélites descritos à direita. O comprimento total do mapa é de 1.278 cM.

Os poucos mapas genéticos de arroz voltados para o mapeamento de QTLs de tolerância a frio em cruzamentos desenvolvidos exclusivamente para este fim, têm sido baseados em cruzamentos entre genótipos da subespécie *japonica*. Tais cruzamentos resultam em menor detecção de polimorfismo do que em cruzamentos *indica x japonica*. DAI *et al.* (2004), por exemplo, encontraram apenas 10% de marcadores polimórficos entre os parentais utilizados, enquanto KUROKI *et al.* (2009) detectaram 17,3% de polimorfismo. Alguns estudos consideram satisfatório o polimorfismo intra-subespecífico próximo de 30% (XU *et al.* 2008; CHANG *et al.*, 2004). No presente trabalho, o cruzamento entre Chorinho e Amaroo apresentou 37% de marcadores polimórficos, que é considerado razoável quando se trata de cruzamento entre genótipos *japonica*.

Foi feito um esforço para aumentar a saturação de marcadores no cromossomo 12. Além dos 4 marcadores que compõem o mapa deste cromossomo, foram testados outros 11 locos adicionais localizados neste cromossomo com base em informações do mapa físico (www.gramene.org). Por falta de polimorfismo entre as cultivares parentais, esta tentativa não logrou êxito.

2.8 Mapeamento genético de regiões genômicas associadas ao controle de tolerância a frio com base em dados fenotípicos coletados no campo

2.8.1 Análise fenotípica de tolerância ao frio a campo

O experimento de tolerância ao frio em condições de campo foi favorecido pelas condições climáticas antes e durante a antese, quando houve uma redução na temperatura da região de Itajaí – SC, onde o experimento foi conduzido, coincidindo com o florescimento da população RIL Chorinho x Amaroo (Figura 19).

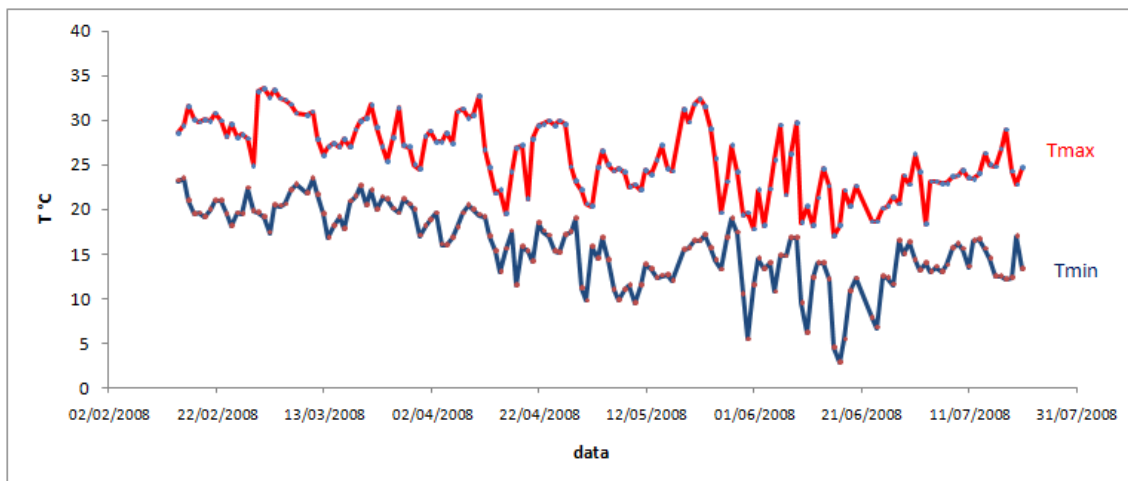


Figura 19 - Temperatura máxima e mínima registrada na Estação Experimental da Epagri (Itajaí-SC) durante o experimento de tolerância ao frio em condições de campo utilizando a população RIL Chorinho x Amaro. O período de florescimento da população segregante ocorreu nas primeiras semanas de maio de 2008.

O início da floração em condição de campo foi observada no dia 5 de maio de 2008 e as coletas do material biológico para a análise de viabilidade de pólen foram feitas nos dias 20, 21 e 27 de maio de 2008. A coleta de dados de componentes de produtividade foi realizada em 18 de junho de 2008. Os dados brutos das nove características avaliadas no experimento de tolerância ao frio em condição de campo foram utilizados para as análises da variância (ANOVA). O sumário dos dados é apresentado nas Tabelas 11 e 12.

Tabela 11 - Análise de variância de características fenotípicas de linhagens RILs sob condição de estresse de frio a campo. Onde: PTP=Peso Total de Panícula; PPP=Peso Parcial de Panícula; KgPPP=Produtividade Parcial; KgPTP=Produtividade Total; NGC=Número de Grãos Cheios; PGC=Peso de Grãos Cheios; NGV=Número de Grãos Vazios; PGV=Peso de Grãos Vazios; VP=Viabilidade de Pólen

Característica	Fonte variação	GL	SQ	QM	F	P
PTP	Repetição	2	45525,07	22762,53	9,22	<.0001
	Linhagem	148	3425845,89	23147,60		
	Erro	292	733383,73	2511,58		
PPP	Repetição	2	46496,13	23248,07	9,36	<.0001
	Linhagem	148	3057743,48	20660,43		
	Erro	292	644769,61	2208,11		
KgPPP	Repetição	2	1435065,63	717532,81	9,36	<.0001
	Linhagem	148	94374799,30	637667,60		
	Erro	292	19900298,10	68151,70		
KgPTP	Repetição	2	1405095,80	702547,90	9,22	<.0001
	Linhagem	148	105735982,30	714432,30		
	Erro	292	22635301,50	77518,20		
NGC	Repetição	2	83678,00	41839,00	8,34	<.0001
	Linhagem	148	19127925,33	129242,74		
	Erro	292	4525708,67	15499,00		
PGC	Repetição	2	51,85	25,93	5,81	<.0001
	Linhagem	148	15923,82	107,59		
	Erro	292	5406,37	18,51		
NGV	Repetição	2	191156,33	95578,17	5,28	<.0001
	Linhagem	148	28336876,04	191465,38		
	Erro	292	10597829,67	36293,94		
PGV	Repetição	2	2,84	1,42	3,39	<.0001
	Linhagem	148	531,66	3,59		
	Erro	292	309,31	1,06		
VP	Repetição	2	2022,78	1011,39	4,70	<.0001
	Linhagem	148	137928,26	931,94		
	Erro	283	56102,00	198,24		

GL – graus de liberdade; SQ – soma dos quadrados; QM – quadrados médios; F – estatística F; P – p-value

Tabela 12 - Valores médios dos fenótipos avaliados nos parentais dos cruzamentos e linhagens puras recombinantes sob condição de estresse por frio. Onde: PTP=Peso Total de Panícula; PPP=Peso Parcial de Panícula; KgPPP=Produtividade Parcial; KgPTP=Produtividade Total; NGC=Número de Grãos Cheios; PGC=Peso de Grãos Cheios; NGV=Número de Grãos Vazios; PGV=Peso de Grãos Vazios; VP=Viabilidade de Pólen

Característica	Chorinho	Amaroo	Linhagens			CV%
			Média	Mínimo	Máximo	
PTP	78,89	138,12	128,37	17,19	465,91	39,04
PPP	73,30	127,58	119,79	16,28	465,91	39,22
KgPPP	407,24	708,82	665,53	90,48	2457,81	39,22
KgPTP	438,32	767,37	713,17	95,53	2588,38	39,04
NGC	172,67	350,66	312,33	10,67	898,33	39,86
PGC	5,59	10,54	9,06	0,22	25,62	47,47
NGV	1287,00	824,67	1066,42	713,00	1740,33	17,86
PGV	5,49	3,93	4,98	2,63	7,56	20,63
VP	13,57	77,12	62,17	13,57	92,49	22,65

Observou-se uma diferença significativa entre os valores médios estimados para os componentes de produtividade entre as linhagens da população RIL. Em todos os parâmetros analisados, o desempenho do parental Amaro foi sempre superior ao parental Chorinho (Tabela 12).

Foi observada segregação transgressiva, ou seja, detectou-se linhagens que revelaram desempenho superior ao da cultivar parental de valor mais elevado ou, por outro lado, linhagens com valores menores que os apresentados pela cultivar parental de menor valor. Para a característica Viabilidade de Pólen o parental suscetível ao frio (Chorinho) apresentou o valor mínimo observado, igual ao de algumas linhagens puras recombinantes. O coeficiente de variação mais elevado foi observado para Peso de Grãos Cheio (47%) e o menor foi para Número de Grãos Vazios (17%). O experimento revelou linhagens com bom potencial de produtividade sob condição de estresse por frio, o que permitiu a seleção de linhagens que estão sendo utilizadas em ensaios em programa de melhoramento para tolerância ao frio.

As características de Número de Grãos Cheios, Peso de Grãos Cheios, Número de Grãos Vazios e Peso de Grãos Vazios apresentam distribuição normal pela análise de significância de simetria (Figura 20). Viabilidade de Pólen tem uma distribuição aparentemente normal, mas o valor do teste de simetria apresentou-se significativo. As demais características apresentaram uma distribuição de frequência dos dados com desvios significativos de normalidade (Tabela 13). Por outro lado, o teste de curtose foi significativo apenas para a característica KgPPP.

Tabela 13 - Valores de simetria e curtose para a distribuição de frequência das características fenotípicas de linhagens puras recombinantes (RIL-F₇) sob de estresse por frio a campo.

Simetria			Curtose		
	Valor <i>t</i>	Prob <i>p</i>		Valor <i>t</i>	Prob <i>p</i>
PTP	4,95	0,003	PTP	2,10	3,373
PPP	5,05	0,000	PPP	2,24	2,348
KgPPP	5,21	0,000	KgPPP	2,57	0,002
KgPTP	4,81	0,000	KgPTP	1,68	8,872
NGC	2,18	2,782	NGC	-2,00	4,257
PGC	2,10	3,358	PGC	-1,78	7,071
NGV	0,41	67,986	NGV	-0,39	69,635
PGV	0,40	68,961	PGV	-0,45	65,386
VP	-4,51	0,002	VP	0,83	59,08

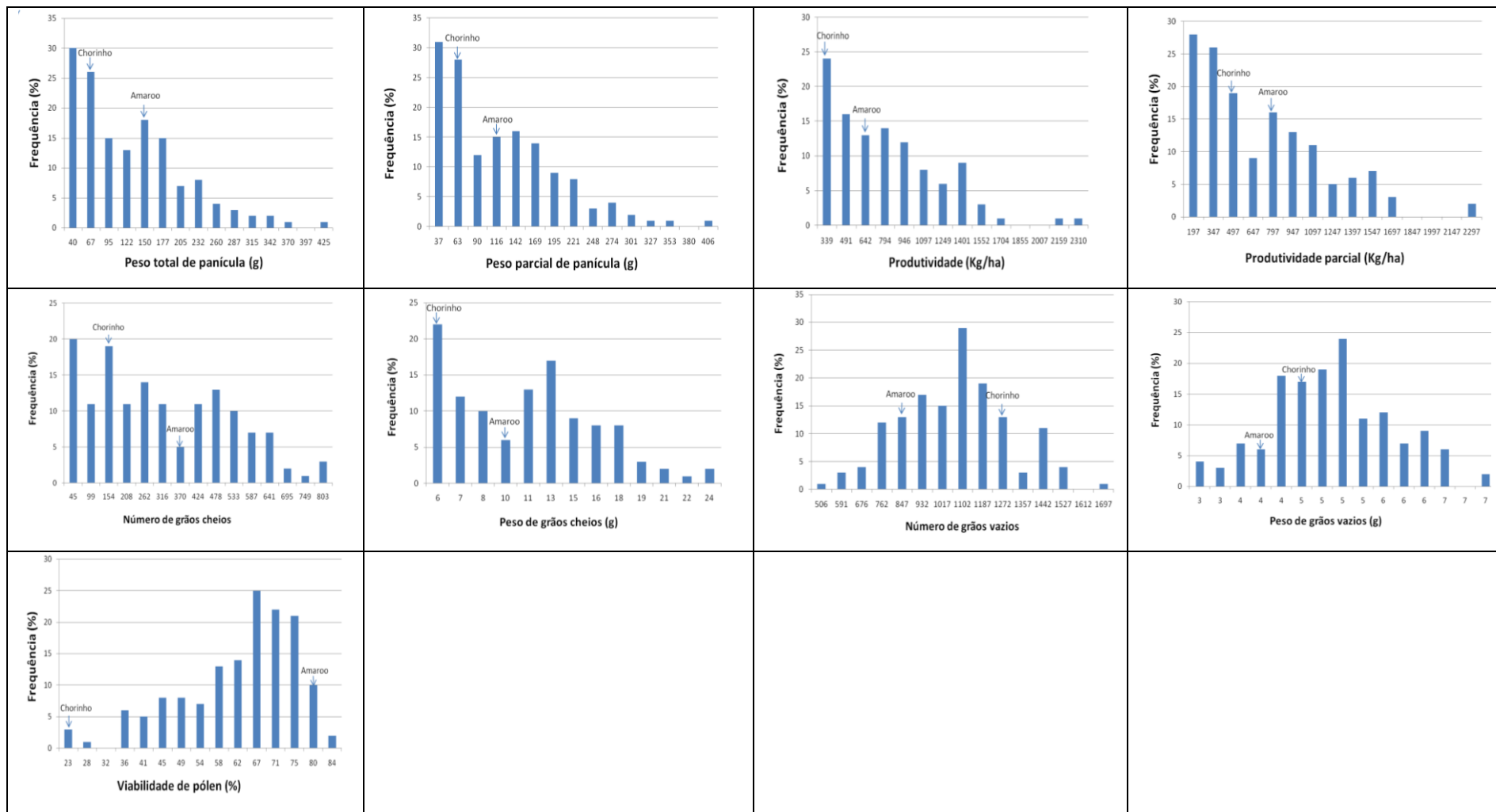


Figura 20 - Distribuição das frequências das características fenotípicas avaliadas no campo sob estresse de frio na população RIL Chorinho x Amaro.

As análises de correlação entre os componentes de produtividade demonstraram ser altamente significativas pelo teste *t*, com valores máximo de R^2 positivo entre as características Peso Total de Panícula e Peso Parcial de Panícula com valor de 0,9922. O menor valor encontrado foi para correlação negativa entre as características de Peso de Grãos Cheios e Peso de Grãos Vazios, com valor de R^2 de -0,327. As correlações entre as características Produtividade e Viabilidade de Pólen não foram significativas. As correlações foram estimadas pelo Coeficiente de Pearson a um nível de significância de 1% através do programa Genes (CRUZ, 2004) (Tabela 14).

Tabela 14 - Coeficientes de correlação de Pearson (R^2) para parâmetros de produtividade e viabilidade de pólen em condições de campo

Parâmetro	PTE1	PPE2	KgPPE3	KgPTE4	NGC5	PGC6	NGV7	PGV8	VP9
PTE1	-	0,992**	0,972**	0,979**	0,802**	0,811**	-0,482**	-0,386**	-0,011
PPE2		-	0,978**	0,981**	0,779**	0,786**	-0,468**	-0,375**	-0,021
KgPPE3			-	0,991**	0,770**	0,775**	-0,456**	-0,374**	-0,046
KgPTE4				-	0,789**	0,796**	-0,463**	-0,377**	-0,014
NGC5					-	0,974**	-0,443**	-0,334**	0,034
PGC6						-	-0,468**	-0,327**	0,039
NGV7							-	0,806**	-0,061
PGV8								-	-0,019
VP9									-

**,* : Significativo a 1 e 5% de probabilidade, pelo teste *t*.

A análise de Viabilidade de Pólen indicou forte contraste entre as cultivares parentais do cruzamento. Nas imagens das panículas coletadas para a contagem de pólen e as lâminas com pólen corado com iodeto de potássio iodado, observou-se que as espiguetas do parental Chorinho têm tamanho reduzido quando comparado com o parental Amaroo, além da baixa densidade de grãos de pólen e o elevado percentual de grãos com ausência de amido e baixa viabilidade (Figura 21).

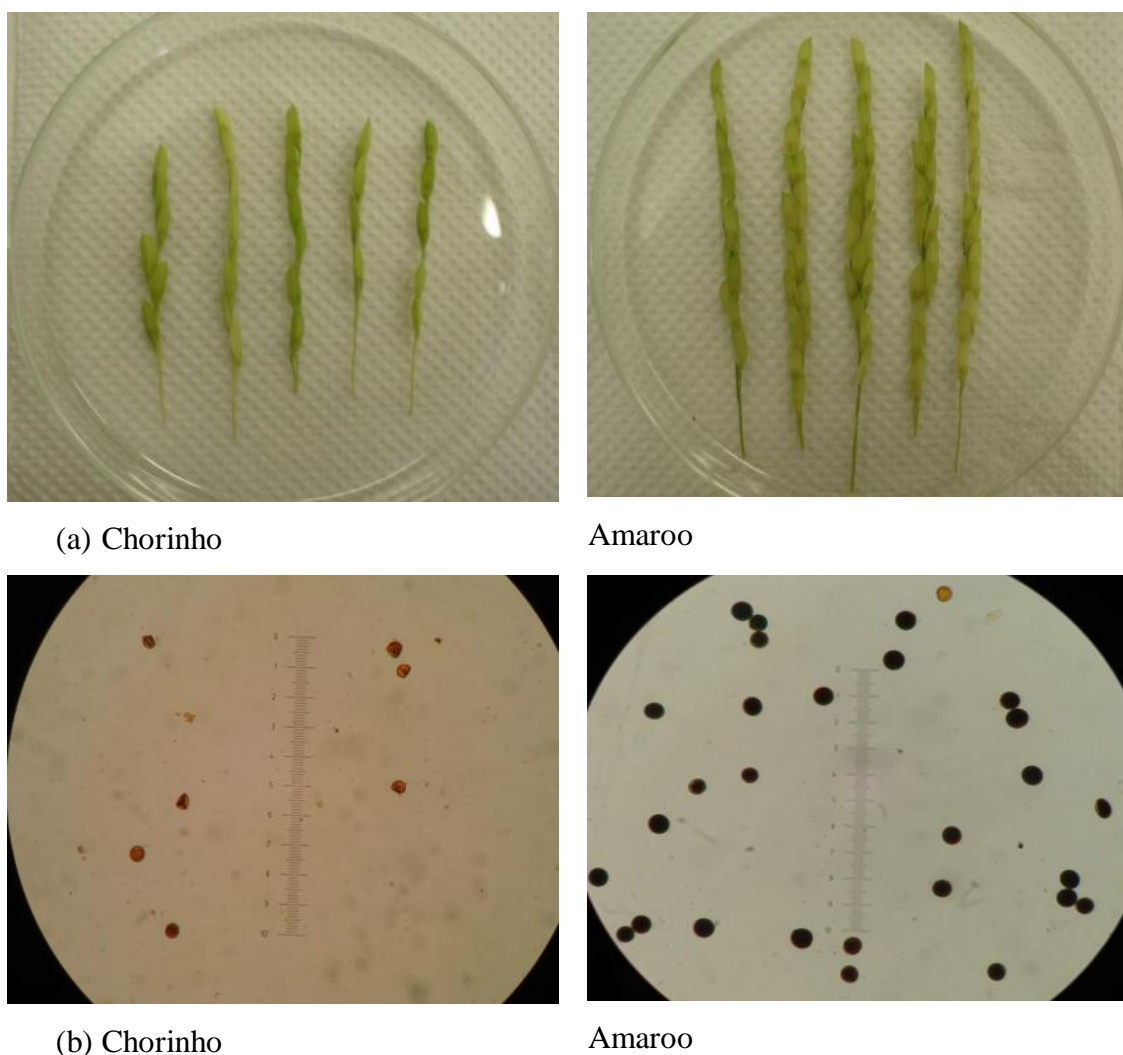


Figura 21 - (a) Imagens de panículas dos parentais do cruzamento sob tratamento de estresse com frio a campo. (b) Imagens de lâminas com pólen corado com iodeto de potássio iodado (lugol 1%) e glicerina (1:1) submetidos a estresse de frio no campo.

As médias calculadas pelo programa IRRISTAT para as nove características avaliadas para tolerância ao frio em condições de campo, após a filtragem baseada na análise de resíduos, foram utilizadas nas análises de QTLs pelo programa WinQTL Cartographer (v.2.5- 2001\2007). Alguns valores não-homogêneos de resíduos de linhagens que apresentavam congruência nas repetições experimentais foram mantidos nas análises e consideradas como genótipos transgressivos (Figura 22). A RIL 420 apresentou valores fenotípicos transgressivos para todas as características analisadas, com excessão de Número de Grãos Vazios e Peso de Grãos Vazios. A RIL 388 apresentou valores fenotípicos transgressivos para todas as características analisadas, com excessão de Número de Grãos Cheios e Viabilidade de Pólen. Algumas RILs se destacaram em valores transgressivos para certas características, como a RIL 403 para

Número de Grãos Cheios e Peso de Grãos Cheios, ou a RIL 272 para Peso de Grãos Cheios. Para Viabilidade de Pólen destacaram-se as RILs 288 e 388 com 81% de viabilidade, a RIL 443 com 84% e a RIL 291 com 86% de viabilidade. A RIL 420 apresentou bom desempenho em Produtividade. Estas linhagens merecem atenção dos programas de melhoramento para tolerância ao frio. Por outro lado, as linhagens com os valores mais elevados para Número e Peso de Grãos Vazios foram as RILs 265, 254, 399, 255, 293, 296. Portanto, são linhagens com desempenho limitado quando expostas ao estresse de frio.

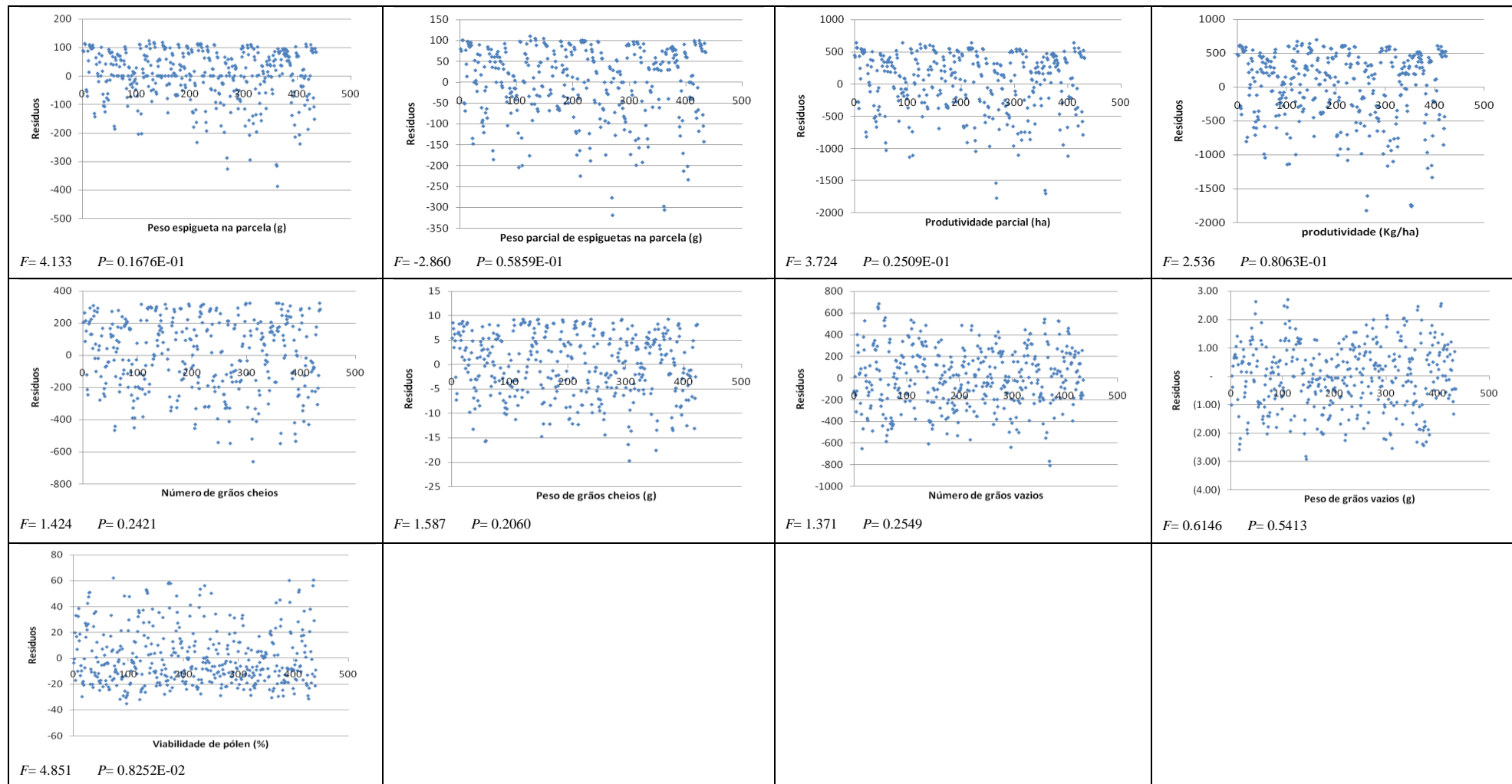


Figura 22 - Gráficos de dispersão de resíduos de nove características fenotípicas das linhagens puras recombinantes sob condição de estresse por frio, com valores das características.

2.8.2 Mapeamento de QTLs de tolerância ao frio com base em dados coletados em condições de campo

Viabilidade de Pólen (VP) – Os dados da característica Viabilidade de Pólen foram inicialmente considerados como dados discretos na classificação de cada RIL (viável/inviável) na análise de ligação com os 165 marcadores microssatélites selecionados que segregam na população RIL Chorinho x Amaro. Tabelas de contingência 2x2 foram utilizadas para estimar valores de significância de testes qui-quadrado (corrigidos para continuidade pela fórmula de Yates) e testes exatos de Fisher.

O teste exato de Fisher é um teste mais rigoroso que o qui-quadrado (Yates) quando uma ou mais classes em uma tabela de contingência 2x2 possuem um número pequeno de amostras, o que ocorreu em algumas combinações genótipo (alelo Chorinho e alelo Amaro) *versus* fenótipo Viabilidade de Pólen. Quando os dois testes foram significativos, isto é, o valor de qui-quadrado (Yates) foi maior ou próximo de 3,70 ($p < 0,05$) e um teste exato de Fisher foi $< 0,05$, considerou-se associação significativa entre o loco marcador e o controle da característica estudada. Desta forma, entre os marcadores moleculares testados que segregam na população RIL Chorinho x Amaro dois locos apresentaram-se associados à característica Viabilidade de Pólen (Tabela 15) analisada como variável discreta.

Tabela 15 – Locos microssatélites com evidência de associação à característica Viabilidade de Pólen com base em valores estimados de χ^2 (com correção de Yates) e de testes exatos de Fisher.

Loco	Cromossomo	valor χ^2 (valor p)	Fisher P-exato
RM7600	1	3,70 (0,0543)	0,036
RM431	1	4,09 (0,0430)	0,029

*significativo a 5%; **significativo a 1%

A análise dos dados contínuos da característica Viabilidade de Pólen avaliada sob condição de estresse de frio no campo demonstrou estar associada de forma significativa a seis marcadores pela análise de Marca Simples, que estão distribuídos nos cromossomos 1, 3, 4, 9 e 11 (Tabela 16). Observou-se novamente a evidência de associação dos marcadores RM7600 e RM431 (cromossomo 1) com a característica Viabilidade de Pólen.

Tabela 16 - Marcadores associados à característica de Viabilidade de Pólen sob condição de estresse por frio no campo pela Análise de Marca Simples.

Marcador	Cromossomo	Posição (cM)	Prob (<i>F</i>)
RM431	1	172,1	0,027
RM7600	1	176,3	0,021
RM3461	3	50,1	0,028
RM335	4	0,0	0,049
RM7306	9	73,2	0,038
RM144	11	76,5	0,028

Teste *F* - Significância 5%

A análise por Mapeamento por Intervalo Composto detectou quatro QTLs significativos para viabilidade de pólen nos cromossomos 3, 8, 9 e 11. Os marcadores explicam entre 0,73 a 15,7% da variação fenotípica.

Tabela 17 - Informações sobre os QTLs identificados pelo modelo de Mapeamento por Intervalo Composto para a característica de Viabilidade de Pólen em linhagens sob estresse por frio a campo.

Intervalo	Grupo de ligação	Posição cM	LOD	Efeito aditivo	R ² (%)
OG66-RM338	3	50,11	3,28	4,61	0,73
RM7285-RM210	8	73,6	2,83	-6,21	10,8
RM7390-RM242	9	32,9	2,61	4,65	8,4
RM206-RM224	11	77,4	4,95	6,24	15,7

Efeito aditivo refere-se à substituição de um alelo do parental Chorinho por um alelo do parental Amaro

Dentre os quatro QTLs detectados, apenas o localizado no cromossomo 8 indica que a substituição do alelo de Chorinho por um alelo de Amaro apresenta efeito aditivo negativo na característica Viabilidade de Pólen. Nos demais locos, o efeito de substituição alélica é positivo para a característica. A análise de fertilidade de sementes em plantas de arroz submetidas a estresse de frio detectou um QTL na mesma região do cromossomo 8, próximo ao marcador RM308 (KUROKI *et al.*, 2007). Os QTLs detectados nos cromossomos 3 e 11 incluem os marcadores associados com a característica pela análise de marca simples (RM3461 e RM144) posicionados nos intervalos dos QTLs. Já o QTL localizado no cromossomo 9 inclui um outro marcador associado à característica pela análise de Marca Simples, porém na extremidade do intervalo do QTL.

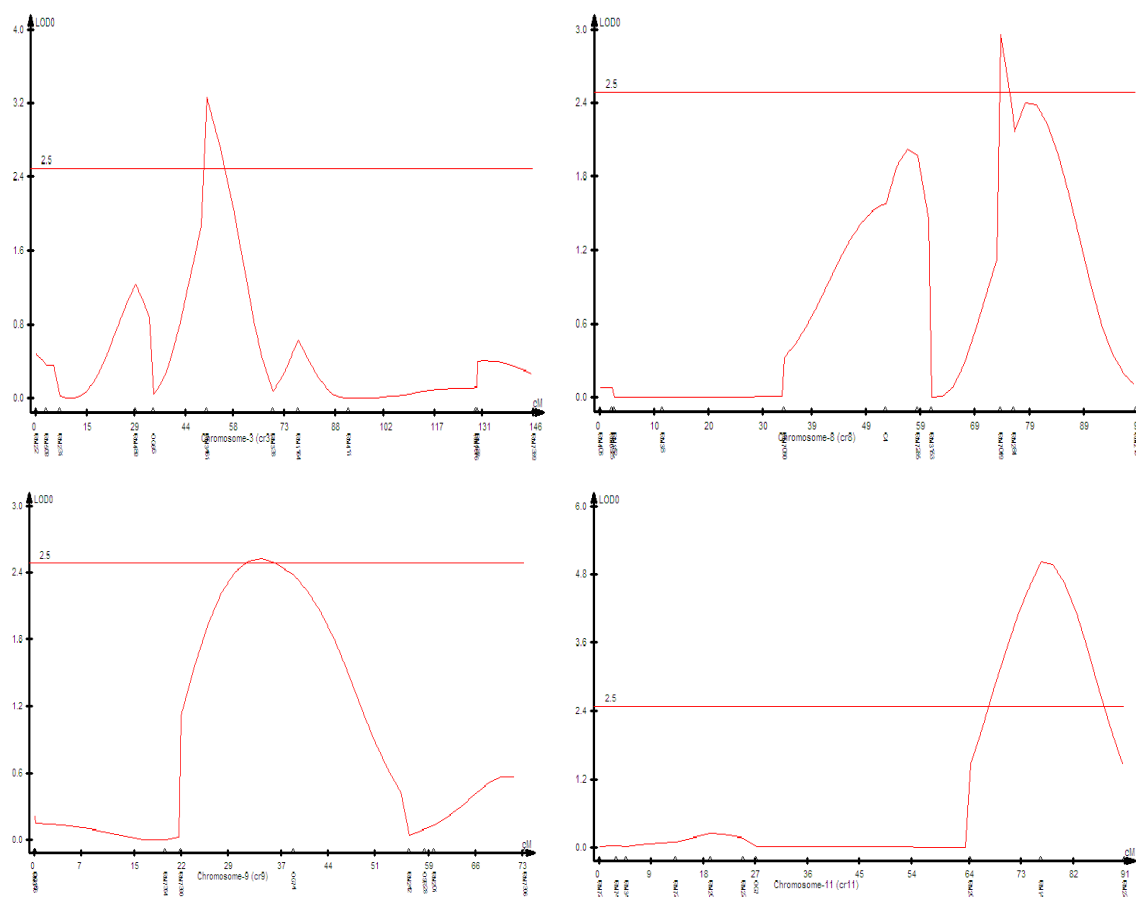


Figura 23 - QTLs relacionados com Viabilidade de Pólen sob estresse por frio no campo localizados nos grupos de ligação 3, 8, 9 e 11 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto. O Valor de LOD crítico utilizado foi de 2,5, representado pela linha horizontal.

Peso Total de Panícula (PTP) - Na análise de Marca Simples observou-se três marcadores associados de forma significativa à característica de Peso Total de Panícula sob estresse por frio no campo. Os marcadores estão localizados no cromossomo 4 e 10 (Tabela 18).

Tabela 18 - Marcadores associados à característica de Peso Total de Panícula sob condição de estresse por frio a campo pela análise de marca simples

Marcador	Cromossomo	Posição (cM)	Prob (<i>F</i>)
RM348	4	108,9	0,024
OSR15	4	110,9	0,043
RM7492	10	0,0	0,022

Teste F - Significância 5%

No análise de Mapeamento de Intervalo Composto foi detectado um QTL com valor de LOD de 2,61 no cromossomo 2, no intervalo entre os marcadores OSR14 e o RM7215 (Figura 24). Este intervalo explica de 7,5% da variação fenotípica para Peso

Total de Panícula. A substituição de alelo parental Chorinho por alelo de Amaro no intervalo tem efeito aditivo positivo no Peso Total da Panícula (Tabela 19).

Tabela 19 - QTL identificado pelo modelo de Mapeamento por Intervalo Composto para Peso Total de Panícula em linhagens sob estresse por frio a campo.

Intervalo	Grupo de ligação	Posição cM	LOD	Efeito aditivo	R ² (%)
OSR14-RM7215	2	14,3	2,61	24,07	7,5

Efeito aditivo refere-se à substituição de um alelo do parental Chorinho por um alelo do parental Amaro

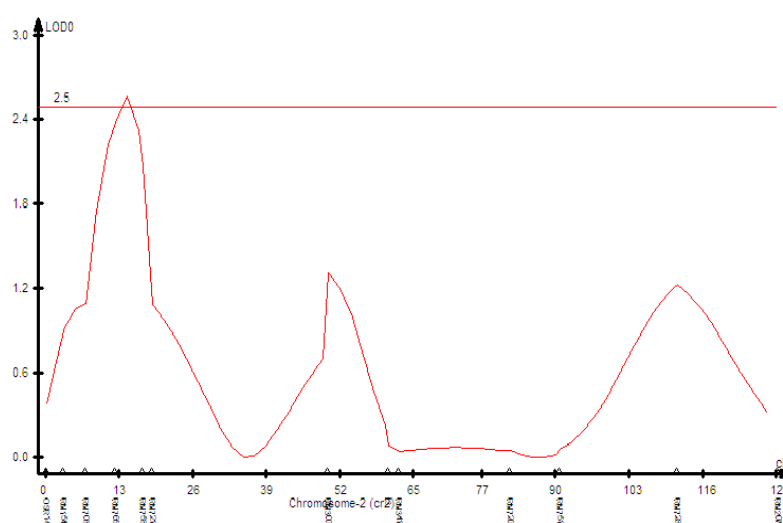


Figura 24 - QTL associado a Peso Total de Panícula sob estresse por frio, localizado no grupo de ligação 2 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto. O valor crítico de LOD utilizado foi de 2,5, representado pela linha horizontal.

Peso Parcial de Panícula (PPP) - Quatro marcadores foram associados de forma significativa com a característica de Peso Parcial de Panícula sob condição de estresse de frio pela análise de Marca Simples. Os marcadores estão distribuídos nos cromossomos 3, 4 e 10 (Tabela 20).

Tabela 20 - Marcadores associados à característica de Peso Parcial de Panícula sob condição de estresse por frio a campo pela análise de Marca Simples

Marcador	Cromossomo	Posição (cM)	Prob (F)
OG66	3	34,5	0,037
RM348	4	108,9	0,017
OSR15	4	110,9	0,027
RM7492	10	0,0	0,028

Teste F - Significância 5%

Foram detectados dois QTLs significativos para a característica nos cromossomos 1 e 11 através do Mapeamento de Intervalo Composto, explicando 6,6 e 7,4% da variação fenotípica (Tabela 21, Figura 25). Os picos do QTL encontram-se nas posições 176,0 e 0,1 cM de cada cromossomo, respectivamente. Os alelos com efeito positivo para os QTLs são provenientes do parental Amaro.

Tabela 21 - QTLs associados à característica de Peso Parcial de Panícula em linhagens submetidas a estresse por frio a campo detectados por Mapeamento de Intervalo Composto.

Intervalo	Grupo de ligação	Posição cM	LOD	Efeito aditivo	R ² (%)
RM431-OG81	1	176,0	3,06	27,32	7,4
RM7283-RM7275	11	0,1	2,81	22,81	6,6

Efeito aditivo refere-se à substituição de um alelo do parental Chorinho por um alelo do parental Amaro

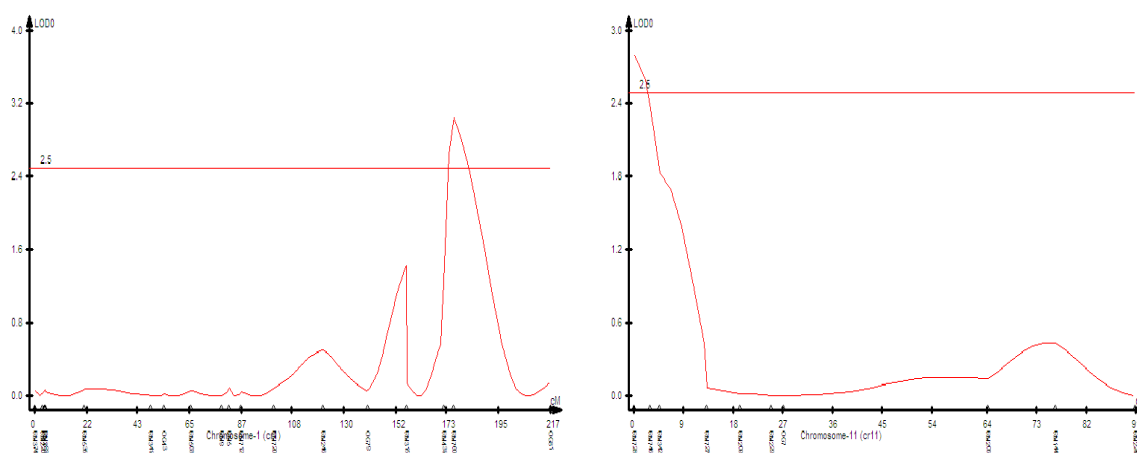


Figura 25 - QTLs identificados para Peso Parcial de Panícula sob estresse por frio, detectados nos grupos de ligação 1 e 11 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto. O valor crítico de LOD utilizado foi de 2,5, representado pela linha horizontal.

Produtividade Parcial (KgPPP) - A característica de Produtividade Parcial sob condição de estresse de frio foi associada significativamente pela análise de Marca Simples a cinco marcadores localizados nos cromossomos 2, 3, 4 e 10 (Tabela 22).

Tabela 22 - Marcadores associados à característica Produtividade Parcial sob condição de estresse por frio a campo pela análise de marca simples

Marcador	Cromossomo	Posição (cM)	Prob (F)
RM7652	2	12,8	0,048
OG66	3	34,5	0,029
RM348	4	108,9	0,026
OSR15	4	110,9	0,047
RM7492	10	0,0	0,018

Teste *F* - Significância 5%

Foram detectados dois QTLs significativamente associados à Produtividade Parcial sob condições de estresse de frio pela Análise de Intervalo Composto (Figura 26). Os picos de QTLs estão posicionados a 15,4 e 0,1 cM, nos cromossomos 2 e 10. Os dois marcadores explicam individualmente cerca de 7,5% da variação fenotípica. A contribuição dos alelos com efeito positivo para os QTLs são provenientes de parentais distintos (Tabela 23). O QTL detectado no cromossomo 10 inclui um marcador associado com a característica na análise de Marca Simples.

Tabela 23 - Dados sobre QTLs detectados para a característica de Produtividade Parcial para tolerância ao frio a campo, em Mapeamento de Intervalo Composto.

Intervalo	Grupo de ligação	Posição cM	LOD	Efeito aditivo	R ² (%)
OSR14-RM7215	2	15,4	2,73	123,51	7,4
RM7492-RM222	10	0,1	2,85	-130,57	7,8

Efeito aditivo refere-se à substituição de um alelo do parental Chorinho por um alelo do parental Amaro

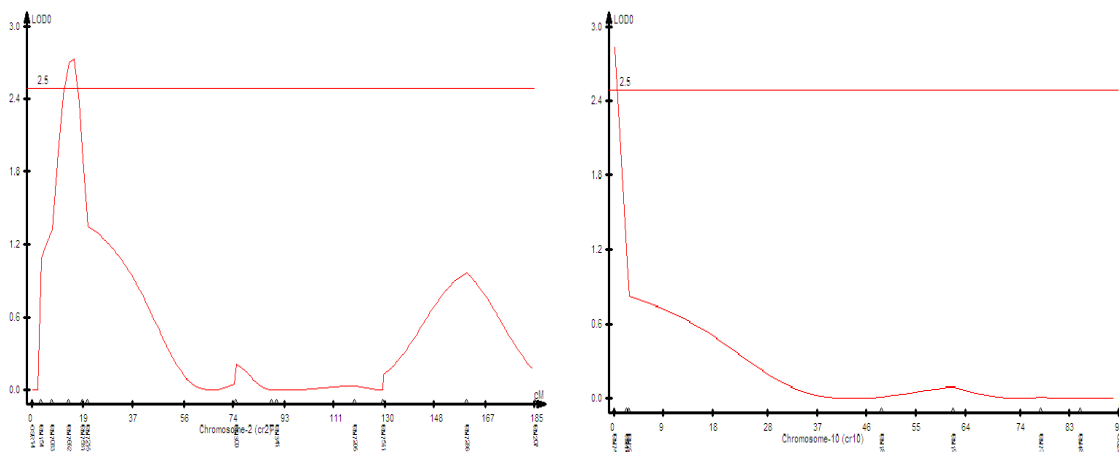


Figura 26 - QTLs identificados para Produtividade Parcial sob estresse por frio a campo nos grupos de ligação 2 e 10 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto. O valor crítico de LOD utilizado foi de 2,5, representado pela linha horizontal.

Produtividade Total (KgPTP) - A característica Produtividade Total sob estresse de frio está associada significativamente a cinco marcadores microssatélites pela análise de Marca Simples, incluindo dois locos no cromossomo 3, dois no cromossomo 4 e um no grupo de ligação 10 (Tabela 24).

Tabela 24 - Marcadores associados à característica de Produtividade Total sob condição de estresse por frio a campo pela análise de Marca Simples

Marcador	Cromossomo	Posição (cM)	Prob (<i>F</i>)
OG66	3	34,5	0,024
RM3461	3	50,1	0,034
RM348	4	108,9	0,011
OSR15	4	110,9	0,022
RM7492	10	0,0	0,018

Teste *F* - Significância 5%

QTLs significativos para a Produtividade Total foram detectados pelo modelo de Intervalo Composto, situados nos cromossomos 5 e 10, nas posições 39,1 e 0,1 cM, respectivamente. Os efeitos aditivos negativos destes QTLs são contribuídos pelo parental Amaro. Estes QTLs explicam 5,6 e 12,8% variação fenotípica (Tabela 25).

Tabela 25 - QTLs associados a Produtividade Total de panícula identificados pelo modelo de Mapeamento por Intervalo Composto em linhagens de arroz sob estresse por frio a campo.

Intervalo	Grupo de ligação	Posição cM	LOD	Efeito aditivo	R ² (%)
RM7511-RM207	2	130,9	2,80	-181,26	12,8
RM7492-RM222	10	0,1	2,64	-130,35	5,6

Efeito aditivo refere-se à substituição de um alelo do parental Chorinho por um alelo do parental Amaro

No grupo de ligação 2 observa-se um QTL no intervalo entre os marcadores RM7492 e RM222 (Figura 27). O marcador RM7492 localizado na extremidade da região do QTL localizado no cromossomo 10 detectado pelo Mapeamento de Intervalo Composto também foi localizado pela análise de Marca Simples.

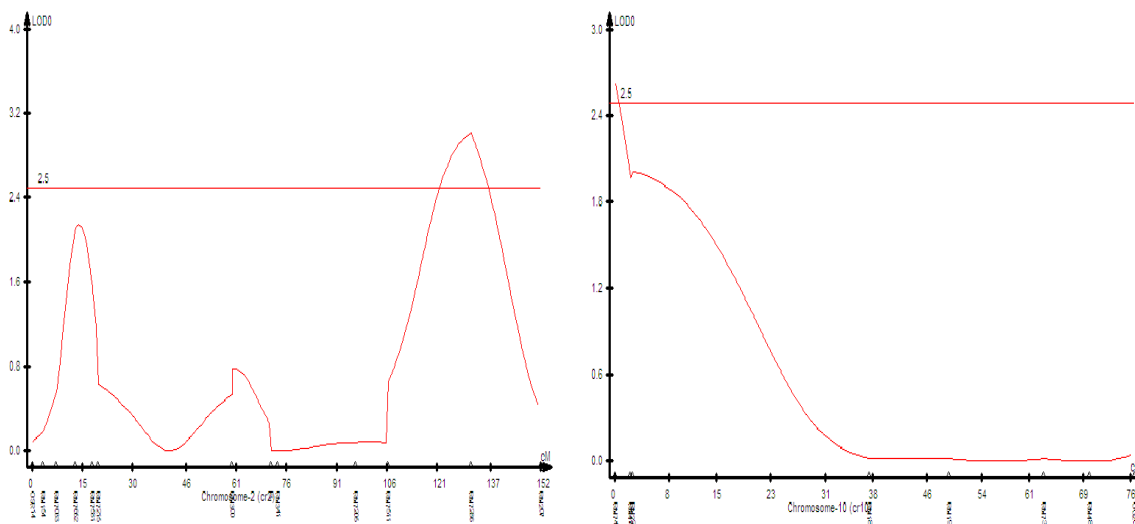


Figura 27 - QTLs identificados para Produtividade Total sob estresse por frio nos grupos de ligação 2 e 10 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto. O valor crítico de LOD utilizado foi de 2,5, representado pela linha horizontal.

Número de Grãos Cheios (NGC) - Apenas um marcador está associado significativamente à característica de Número de Grãos Cheios pela análise de Marca Simples, localizado no cromossomo 10 (Tabela 26).

Tabela 26 - Marcadores associados à característica de Número de Grãos Cheios sob condição de estresse por frio pela análise de marca simples

Marcador	Cromossomo	Posição (cM)	Prob (<i>F</i>)
RM7492	10	0,0	0,018

Teste *F* - Significância 5%

O modelo de Intervalo Composto detectou dois QTLs significativos para Número de Grãos Cheios nos cromossomos 8 e 10, nas posições 76,1 e 0,1 cM. Estes QTLs explicam 7,9 e 7,2% da variação fenotípica, respectivamente. O efeito de substituição alélica nos dois intervalos leva a um decréscimo no Número de Grãos Cheios (Tabela 27). O QTL detectado no intervalo entre os marcadores RM7492 e RM222, inclui o marcador RM7492 associado a esta característica pela análise de Marca Simples.

Tabela 27 - Dados sobre QTLs detectados para a Número de Grãos Cheios em linhagens sob estresse por frio a campo, em Mapeamento de Intervalo Composto.

Intervalo	Grupo de ligação	Posição cM	LOD	Efeito aditivo	R ² (%)
RM7285-RM210	8	76,1	2,97	-61,84	7,9
RM7492-RM222	10	0,1	2,62	-56,47	7,2

Efeito aditivo refere-se à substituição de um alelo do parental Chorinho por um alelo do parental Amaro

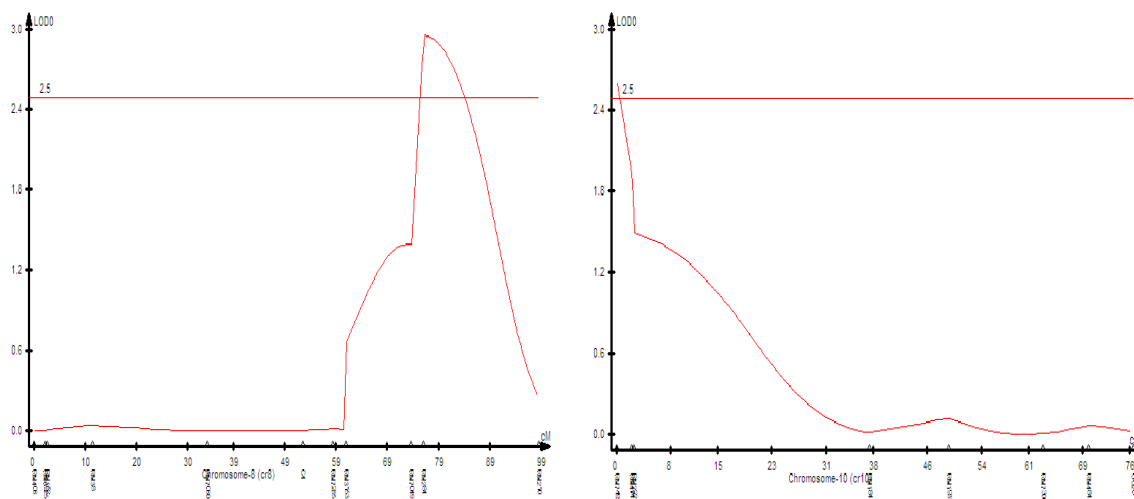


Figura 28 - QTLs identificados para Número de Grãos Cheios sob estresse por frio nos grupos de ligação 8 e 10 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto. O valor crítico de LOD utilizado foi de 2,5, representado pela linha horizontal.

Peso de Grãos Cheios (PGC) - Dois marcadores estão associados de forma significativa à característica Peso de Grãos Cheios pela análise de Marca Simples. Os marcadores associados estão localizados nos cromossomos 1 e 8 (Tabela 28).

Tabela 28 - Marcadores associados à característica de Peso de Grãos Cheios sob condição de estresse por frio pela análise de Marca Simples

Marcador	Cromossomo	Posição (cM)	Prob (<i>F</i>)
OG43	1	54,5	0,009
RM284	8	76,1	0,048

Teste *F* - Significância 5%

Um QTL significativo para Peso de Grãos Cheios foi localizado no cromossomo 5 pelo modelo de Mapeamento por Intervalo Composto, na posição de 28,01 cM. Este QTL explica 6,0% da variação fenotípica e o efeito aditivo negativo do QTL é proveniente do parental Amaro (Tabela 29).

Tabela 29 - Informações sobre QTL identificado pelo modelo de Mapeamento por Intervalo Múltiplo para a característica de Peso de Grãos Cheios em linhagens sob estresse por frio a campo.

Intervalo	Grupo de ligação	Posição cM	LOD	Efeito aditivo	R ² (%)
OG32-RM7416	5	28,01	3,34	-4,95	6,0

Efeito aditivo refere-se à substituição de um alelo do parental Chorinho por um alelo do parental Amaro

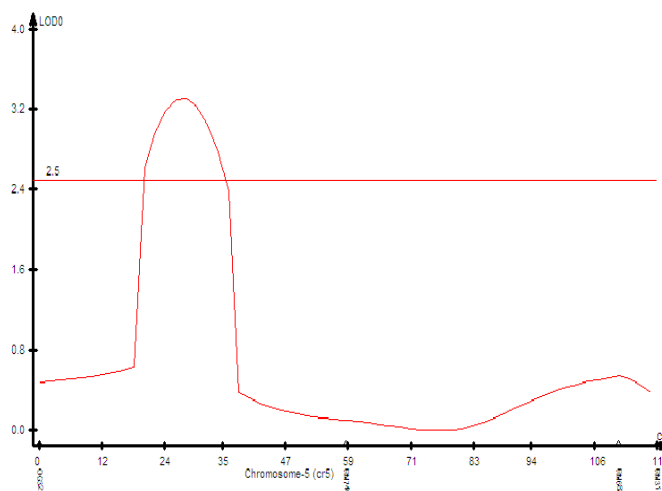


Figura 29 - QTL identificado para Peso de Grãos Cheios sob estresse por frio no cromossomo 5 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto. O valor crítico de LOD utilizado foi de 2,5, representado pela linha horizontal.

Número de Grãos Vazios (NGV) - A característica de Número de Grãos Vazios está significativamente associada a dois marcadores localizados nos cromossomos 3 e 11, respectivamente, pela análise de Marca Simples. Note-se que o marcador OG66 está também associado com outras características positivas de produtividade, como o Peso Parcial da Panícula, Produtividade Parcial, Produtividade Total e Viabilidade de Pólen.

Tabela 30 - Marcadores associados à característica de Número de Grãos Vazios sob condição de estresse por frio pela análise de marca simples

Marcador	Cromossomo	Posição (cM)	Prob (<i>F</i>)
OG66	3	34,5	0,037
RM338	3	69,5	0,048
RM229	11	24,9	0,044

Teste *F* - Significância 5%

Nenhum QTL foi detectado para a característica pelas análises de Mapeamento de Intervalo Composto.

Peso de Grãos Vazios (PGV) - O Peso de Grãos Vazios está associado significativamente pela análise de Marca Simples ao marcador RM315 localizado no cromossomo 1, na posição 156,5 (Tabela 31).

Tabela 31 - Marcadores associados à característica de Peso de Grãos Vazios sob condição de estresse por frio pela análise de Marca Simples

Marcador	Cromossomo	Posição (cM)	Prob (<i>F</i>)
RM315	1	156,5	0,031

Teste *F* - Significância 5%

No Mapeamento de Intervalo Composto foi detectado um QTL com valor de LOD de 2,76 localizado no cromossomo 1 para esta característica. Este QTL explica 7,3% da variação fenotípica de Peso de Grãos Vazios em plantas submetidas a estresse de frio (Tabela 32). O alelo com efeito positivo para a característica é proveniente do parental Amaro. O loco RM315, associado significativamente à característica pela análise de Marca Simples, está localizado no intervalo do QTL detectado (Figura 30).

Tabela 32 - QTL associado a Peso de Grãos Vazios em linhagens sob estresse por frio a campo pelo modelo de Mapeamento de Intervalo Composto

Intervalo	Grupo de ligação	Posição cM	LOD	Efeito aditivo	R ² (%)
OG79-RM7600	1	122,3	2,76	0,28	7,3

Efeito aditivo refere-se à substituição de um alelo do parental Chorinho por um alelo do parental Amaro

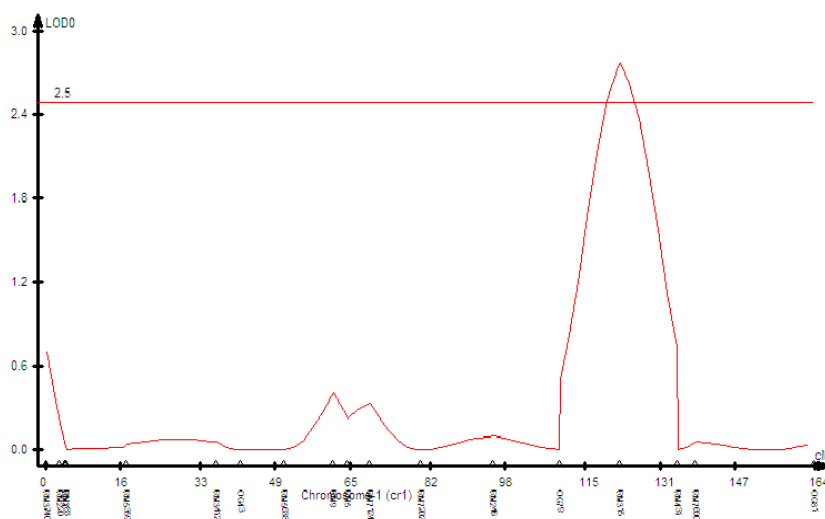


Figura 30 - QTL relacionado com a característica de Peso de Grãos Vazios sob estresse de frio localizado no cromossomo 1, detectado pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto. O Valor crítico de LOD utilizado foi de 2,5, representado pela linha horizontal.

Os dados fenotípicos e moleculares da população RIL Chorinho x Amaro, avaliada sob condições de estresse de frio no campo, possibilitaram a detecção de oito QTLs associados ao controle de tolerância ao frio por Mapeamento de Intervalo Composto para componentes de produtividade, localizados nos cromossomos 1, 2, 5, 8, 10 e 11 e quatro QTLs associados com Viabilidade de Pólen, localizados nos cromossomos 3, 8, 9 e 10. Sete QTLs apresentam efeito aditivo proveniente do parental Amaro. Os percentuais de variação fenotípica explicadas pelos QTLs apresentaram valores entre 0,73 a 15,7. (Tabela 33).

Tabela 33 - QTLs associados a componentes de produtividade e viabilidade de pólen de linhagens arroz sob estresse por frio a campo detectados por Mapeamento de Intervalo Composto.

QTL	Parâmetro	Intervalo	Grupo de ligação	Posição cM	LOD	Efeito aditivo	R ² (%)
*qPTP2a	PTP	OSR14-RM7215	2	14,3	2,61	24,07	7,5
*qPPP1b	PPP	RM431-OG81	1	176,0	3,06	27.32	7,4
*qPPP11a	PPP	RM7283-RM7275	11	0,1	2,81	22.81	6,6
qKgPPP2b	KgPPP	OSR14-RM7215	2	15,4	2,73	123.51	7,4
*qKgPPP10a	KgPPP	RM7492-RM222	10	0,1	2,85	-130.57	7,8
*qPTP2b	PTP	RM7511-RM207	2	108.1	2,80	-181.26	12,8
qPTP10b	PTP	RM7492-RM222	10	0,1	2,64	-130.35	5,6
*qNGC8a	NGC	RM7285-RM210	8	76,1	2,97	-61.84	7,9
qNGC10c	NGC	RM7492-RM222	10	0,1	2,62	-56.47	7,2
*qPGC5	PGC	OG32-RM7416	5	28,01	3,34	-4,95	6,0
*qPGV1a	PGV	OG79-RM7600	1	122.3	2,76	0.288	7,3
*qPVP3	PVP	OG66-RM338	3	50,11	3,28	4,61	0,73
qPVP8b	PVP	RM7285-RM210	8	73,6	2,83	-6,21	10,8
*qPVP9	PVP	RM7390-RM242	9	32,9	2,61	4,65	8,4
*qPVP11b	PVP	RM206-RM224	11	77,4	4,95	6,24	15,7

Efeito aditivo refere-se à substituição de um alelo do parental Chorinho por um alelo do parental Amaro/ Nomenclatura do QTL= q = QTL / seguido da nomenclatura do parâmetro / Número= cromossomo correspondente/ ab=QTL diferente para a mesma característica/ *QTLs diferentes

Alguns destes QTLs são comuns a diferentes características, como o intervalo OG79-RM7600 no cromossomo 1 (VP, PGV, PPP), OSR14-RM7215 no cromossomo 2 (PTP, KgPPP), OG66-RM3461 (VP, PPP, KgPTP, NGV, KgPPP, KgPTP), RM348-OSR15 no cromossomo 4 (KgPTP, PTP, PPP, KgPPP) e RM749-RM222 no cromossomo 10 (KgPTP, PTP, KgPPP, NGC). Entre os marcadores OG66 e RM338 no braço curto do cromossomo 3 foi localizado um QTL para a característica de Viabilidade de Pólen (VP). DAI *et al.*(2004) detectaram um QTL nesse mesmo intervalo em um estudo com estresse de frio durante o estágio reprodutivo das plantas (Tabela 33). Entre os marcadores RM7492 e RM222 do cromossomo 10 detectado no presente trabalho para as características de Peso de Panícula e Número de Grãos Cheios encontra-se um QTL localizado por XU *et al.* (2008), denominado qCTB10-1, originalmente detectado em dois experimentos desenvolvidos em diferentes ambientes (Tabela 33). O QTL para Peso de Grãos, que é delimitado pelos marcadores RM7283 e RM7275, encontra-se no intervalo do QTL denominado qCTS11-2 para tolerância à

necrose causada por frio, identificado por ANDAYA and MACKILL (2003) (Tabela 34).

Tabela 34 - Regiões comuns de QTL para tolerância ao frio descrita para diferentes populações submetidas a estresse de baixa temperatura em diferentes estádios de desenvolvimento da planta

Presente estudo	Estudos prévios	Grupo de ligação	Intervalo	Posição cM	LOD	Efeito aditivo	R ² (%)	Referência
RM206-RM224	qRCT3	3	C563/RG391		2,56	7,60	-3,23	Dai <i>et al.</i> ,2005
RM7492-M222	qCTB10-1	10	RM3590-RM24918a	0	3,69	3,49	1,09	Xu <i>et al.</i> ,2008
RM7283-RM7275	qCTS11-2	11	RM254-RM330a	11,1	4,77	-1,00	13,0	Andaya & Mackill, 2003
RM7283- RM7275	qCT11	11	RM202-RM209		19,19	10,11	29,8	Zhang, <i>et al.</i> , 2004
OG32-RM7446	QSV-5	5	RM161-CDSR49		7,2	-0,12	12,1	Zhang <i>et al.</i> ,2005

Nomenclatura do QTL= qCT= QTL tolerância ao frio/ A= tratamento na antese; B= emborrachamento; S= seedling/ Número= característica/ab=diferentes ambientes

O QTL qCTB10-1 detectado em dois experimentos desenvolvidos em lugares diferentes por XU et al. (2008) encontra-se no mesmo intervalo do QTL entre os marcadores RM7492 e RM222 do cromossomo 10 detectado no presente trabalho para as características de Peso de Panícula e Número de Grãos Cheios. Os marcadores utilizados pelo autor são diferentes dos marcadores utilizados neste mapa, porém, a busca da informação através de Blast utilizando a sequência dos iniciadores permitiu identificar a posição dos marcadores no mapa físico da subespécie *japonica* (www.gramene.org). KUROKI *et al.* (2009) detectaram dois QTLs de tolerância ao frio no cromossomo 10, mas nenhum QTL parece situar-se na mesma região dos QTLs detectados neste cromossomo no presente trabalho.

O QTL de maior contribuição fenotípica (12,8%) para as características Produtividade Total (KgPTP) localiza-se no cromossomo 2, no intervalo entre os marcadores RM7511-RM207. O QTL que contribuiu com a maior variação fenotípica (15,7%) para Viabilidade de Pólen foi o detectado no cromossomo 11, localizado no intervalo entre os marcadores RM206-RM224.

Foram localizados dois QTLs no cromossomo 1 para Peso Parcial de Panícula e Peso de Grãos Vazios. Na mesma região, TAKEUSHI *et al.* (2001) localizaram um QTL para a característica Esterilidade de Espigueta. ANDAYA and MACKILL (2003a)

identificaram QTLs nos cromossomos 1 e 3 associados ao controle de esterilidade de espiguetas em plantas submetidas a estresse de frio.

O QTL para Peso Parcial de Panícula, que é delimitado pelos marcadores RM7283 e RM7275, encontra-se no intervalo do QTL denominado como qCTS11-2 para tolerância à necrose identificado por ANDAYA and MACKILL (2003b) em plantas submetidas a estresse de frio. Outros marcadores que delimitam QTLs de menor efeito para murcha e necrose causada por frio (ANDAYA and MACKILL, 2003b) também foram detectados no presente trabalho em associação por análise de Marca Simples. Dentre eles destacam-se: RM348 (cromossomo 3), associado a diferentes características (VP, PPP), que flanqueia o QTL de tolerância à murcha sob efeito de estresse de frio, e o marcador RM284 (cromossomo 8), associado à característica de Peso de Grãos Cheios.

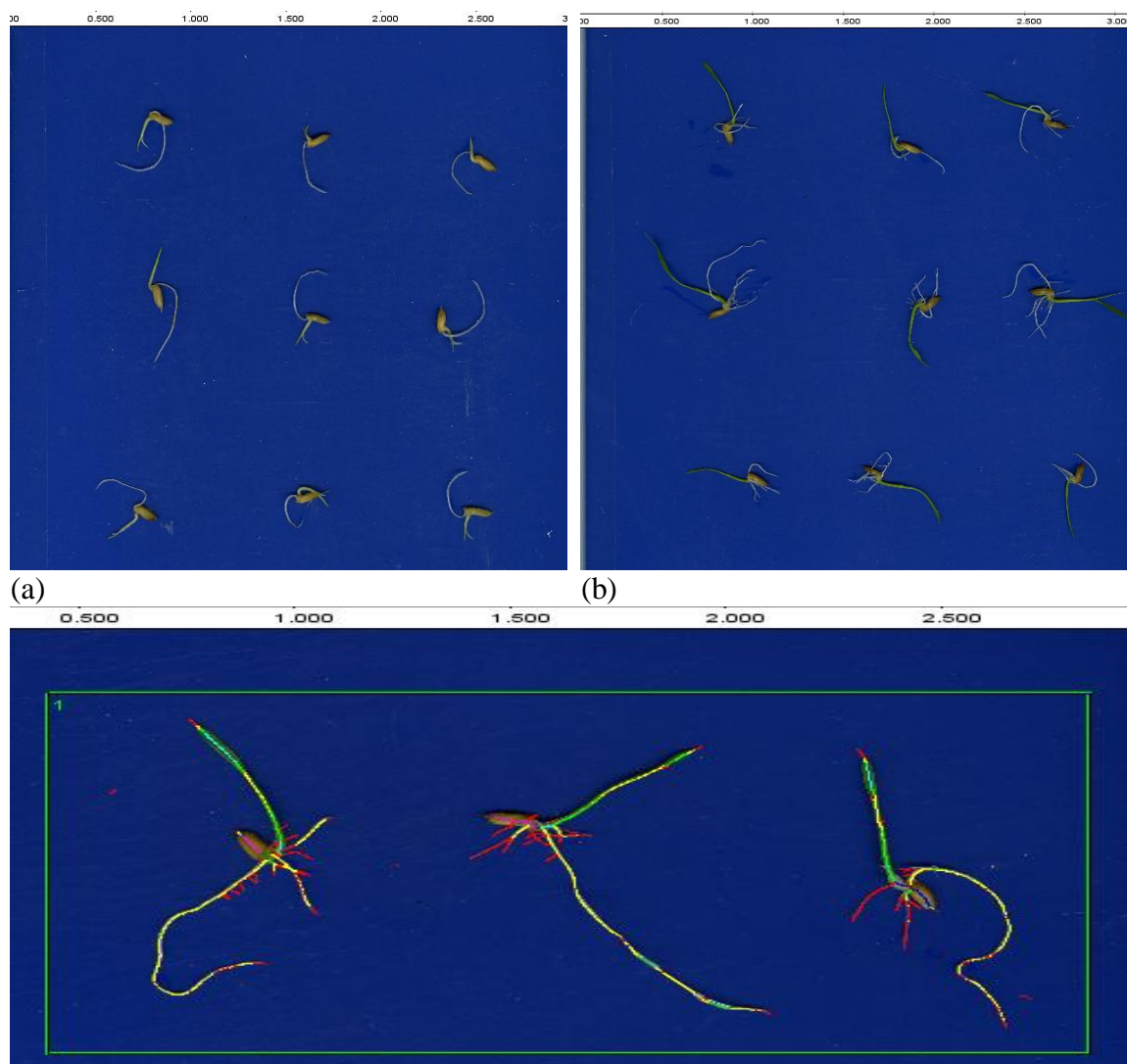
O marcador RM335 (cromossomo 4), associado à Viabilidade de Pólen neste trabalho, flanqueia o QTL para cor de folha e crescimento sob estresse de frio (ANDAYA & MACKILL, 2003) e altura da plântula sob frio (ZHAN *et al.* 2003). Dois marcadores associados à característica Viabilidade de Pólen (RM431 e RM7600) encontram-se próximos ao marcador RM3482 que flanqueia o QTL para tolerância ao frio em estágio de emborrachamento detectado em três anos consecutivos de experimento (KUROKI *et al.*, 2009). As informações de mapa físico foram acessadas pelo portal Gramene através de “Blast” utilizando as sequências dos iniciadores (www.gramene.org).

2.9 Mapeamento genético de regiões genômicas associadas ao controle de tolerância a frio com base em dados fenotípicos sob condições controladas

Os dados de raiz e parte aérea das características avaliadas em condições controladas (Crescimento, Área Projetada, Área Superficial, Diâmetro Médio e Volume) foram utilizados para avaliar o efeito do estresse de frio na Germinação de Plântulas, assim como a Capacidade de Recuperação do Crescimento da Plântula após o estresse de frio. Os dados foram submetidos à análise da variância (ANOVA) pelo modelo linear (GLM) através do programa SAS (v.8) (Tabelas 35 a 38).

Efeito do estresse de frio na Germinação de Plântulas - Nas avaliações de crescimento de raiz e parte aérea durante a Germinação de Plântulas sob estresse de frio (Figura 31), a variação causada pelas diferenças entre as linhagens nos dois ambientes (estresse de frio e controle) foi altamente significativa para todas as características avaliadas, com exceção de Diâmetro de Parte Aérea. A diferença fenotípica entre as linhagens dentro de cada repetição em todas as características analisadas não foram significativas, ou seja, as linhagens demonstraram comportamentos similares nas diferentes repetições (Tabelas 35 e 37).

Em todos os parâmetros analisados em condições controladas (Comprimento, Área Projetada, Área Superficial, Diâmetro Médio e Volume), o desempenho do parental Amaroo foi superior ao parental Chorinho, que é suscetível ao frio (Tabelas 36 e 38). Foram observadas linhagens com segregação transgressiva, ou seja, que apresentaram desempenho superior à média da população e valores superiores aos observados no parental de valor mais elevado, assim como para valores menores que os apresentados pelo parental de menor valor, com exceção em Diâmetro Médio e Volume de Raiz (Tabela 36) e Volume de Parte Aérea (Tabela 38).



(c)

Figura 31 – Desenvolvimento de plântulas da população RIL Chorinho x Amaro submetidas a estresse de frio em câmara de crescimento: (a) linhagem suscetível e (b) linhagem tolerante; (c) contraste da imagem capturada para estimativa de parâmetros de desenvolvimento de raiz e parte aérea pelo software WinRhizo.

Tabela 35 - Análise de variância de parâmetros radiculares relativos mensurados durante a Germinação das Plântulas de linhagens RILs submetidas a tratamentos com e sem estresse por frio.

Característica	Fonte variação	GL	SQ	QM	F	P
Comprimento	Repetição	2	21304,00	10652,03	108,59	<,000
	Ambiente	1	1918702,23	1918702,23	4,74	<,000
	Linhagem	143	66530,16	465,24	1,71	0,000
	Linhagem x ambiente	140	23499,83	167,85	0,97	0,586
	Linhagem x repetição	284	21891,23	77,08	0,79	0,976
	Erro	829	351873,41	98,09		
Área projetada	Repetição	2	53,48	26,73	103,79	<,000
	Ambiente	1	331,77	331,77	1287,85	<,000
	Linhagem	143	176,09	1,23	4,78	<,000
	Linhagem x ambiente	140	46,54	0,33	1,29	0,040
	Linhagem x repetição	284	62,36	0,21	0,85	0,906
	Erro	829	66,72	0,25		
Área superficial	Repetição	2	527,69	263,84	104,32	<,000
	Ambiente	1	24991,58	24991,58	432,79	<,000
	Linhagem	143	1735,52	12,13	4,81	<,000
	Linhagem x ambiente	140	457,92	3,27	1,29	0,037
	Linhagem x repetição	284	614,30	2,16	0,86	0,901
	Erro	650	7712,34	2,52		
Diâmetro médio	Repetição	2	0,28	0,14	8,66	<,000
	Ambiente	1	239,33	239,32	223,25	<,000
	Linhagem	143	2,62	0,02	8,66	<,000
	Linhagem x ambiente	140	0,50	0,00	1,69	0,000
	Linhagem x repetição	284	0,62	0,00	1,04	0,360
	Erro	829	12,32	0,00		
Volume	Repetição	2	0,077	0,03	47,87	<,000
	Ambiente	1	0,266	0,26	329,74	<,000
	Linhagem	143	0,54	0,00	47,87	<,000
	Linhagem x ambiente	140	0,11	0,00	1,04	0,387
	Linhagem x repetição	284	0,22	0,00	0,99	0,536
	Erro	829	1,49	0,00		

Tabela 36. Valores médios de parâmetros radiculares mensurados durante a germinação das Plântulas nas cultivares parentais Chorinho e Amaro submetidas a tratamentos com estresse por frio.

Característica		Chorinho	Amaroo	Linhagens			CV%
				Mínimo	Média	Máximo	
Crescimento	Comp	14,75	15,73	4,91	18,42	32,48	29,79
	ArPr	0,95	1,15	0,63	1,37	2,24	24,98
Radicular	ArSu	2,98	3,61	1,99	4,33	7,08	24,91
	DiaM	0,64	0,73	0,70	0,76	0,96	6,88
	Vol	0,07	0,09	0,11	0,10	0,14	22,69

Tabela 37 - Análise de variância de parâmetros de parte aérea relativos mensurados durante a Germinação das Plântulas de linhagens RILs submetidas a tratamentos com e sem estresse por frio.

Característica	Fonte variação	GL	SQ	QM	F	P
Comprimento	Repetição	2	1096,65	548,32	113,40	0,451
	Ambiente	1	33688,07	33688,07	6966,99	<,001
	Linhagem	142	6425,90	45,25	9,36	<,000
	Linhagem x ambiente	137	1365,03	9,96	96377	<,000
	Linhagem x repetição	279	1214,72	4,35	0,90	0,803
	Erro	810	48932,17	4,83		
Área projetada	Repetição	2	9,07	4,53	71,93	<,000
	Ambiente	1	241,02	241,02	3820,09	<,000
	Linhagem	142	75,39	0,53	8,42	<,000
	Linhagem x ambiente	137	25,40	0,18	2,94	<,000
	Linhagem x repetição	279	16,08	0,05	0,91	0,767
	Erro	810	416,66	0,06		
Área superficial	Repetição	2	89,59	44,79	71,92	<,000
	Ambiente	1	2378,86	2378,86	3819,34	<,000
	Linhagem	142	744,09	5,24	8,41	<,000
	Linhagem x ambiente	137	250,79	1,83	2,94	<,000
	Linhagem x repetição	279	158,80	0,56	0,91	0,767
	Erro	810	4112,42	0,62		
Diâmetro médio	Repetição	2	1,05	0,52	0,49	0,612
	Ambiente	1	97322,75	97322,75	0,77	0,380
	Linhagem	142	15512959,52	109246,19	0,87	0,866
	Linhagem x ambiente	137	15505434,33	113178,35	0,90	0,756
	Linhagem x repetição	279	31022485,89	111191,71	0,88	0,845
	Erro	810	93658515,44	126047,98		
Volume	Repetição	2	0,00	0,00	0,17	0,847
	Ambiente	1	0,12	0,12	68,20	<,000
	Linhagem	142	1,14	0,00	4,25	<,000
	Linhagem x ambiente	137	0,48	0,00	1,86	<,000
	Linhagem x repetição	279	0,46	0,00	0,88	0,857
	Erro	810	2,77	0,00		

Tabela 38 - Valores médios de parâmetros de parte aérea mensurados durante a Germinação das Plântulas nas cultivares parentais Chorinho e Amaro submetidas a tratamentos com estresse por frio.

Característica	Chorinho	Amaroo	Linhagens			CV%	
			Mínimo	Média	Máximo		
Crescimento de Parte Aérea	Comp	11,06	11,28	7,00	11,7	16,40	11,84
	ArPr	1,41	1,55	1,24	1,68	2,15	11,11
	ArSu	4,43	4,89	3,91	5,28	6,77	11,11
	DiaM	1,30	1,38	1,15	1,47	1,71	2,68
	Vol	0,17	0,19	0,17	0,25	0,39	16,22

Todas as características de parte aérea e de raiz durante Germinação de Plântula apresentam distribuição normal (Figuras 32 e 33) conforme observado na análise de significância de simetria, com exceção de Volume de parte aérea sob condição de estresse por frio (Tabelas 39 e 40).

Tabela 39 - Valores de simetria e curtose para a distribuição de frequência de parâmetros radiculares mensurados durante a Germinação de Plântula de linhagens puras recombinantes (RIL-F₇) sob condição controle.

Simetria			Curtose		
	<u>Valor t</u>	<u>Prob p</u>		<u>Valor t</u>	<u>Prob p</u>
Comp	0,78	55,87	Comp	-1,018	30,99
ArPr	-0,34	97,09	ArPr	-1,30	18,73
ArSu	-0,09	92,42	ArSu	-1,22	21,72
DiaM	-0,62	54,00	DiaM	-1,22	21,74
Vol	-0,43	66,55	Vol	-1,13	88,72

Tabela 40 - Valores de simetria e curtose para a distribuição de frequência de parâmetros de parte aérea mensurados durante a Germinação de Plântula de linhagens puras recombinantes (RIL-F₇) sob de estresse por frio em condições controladas.

Simetria			Curtose		
	<u>Valor t</u>	<u>Prob p</u>		<u>Valor t</u>	<u>Prob p</u>
Comp	0,27	78,32	Comp	-2,14	3,07
ArPr	1,00	31,59	ArPr	-1,25	20,59
ArSu	1,00	31,59	ArSu	-1,25	20,74
DiaM	2,19	2,71	DiaM	-0,65	52,32
Vol	4,21	0,00	Vol	3,13	0,19

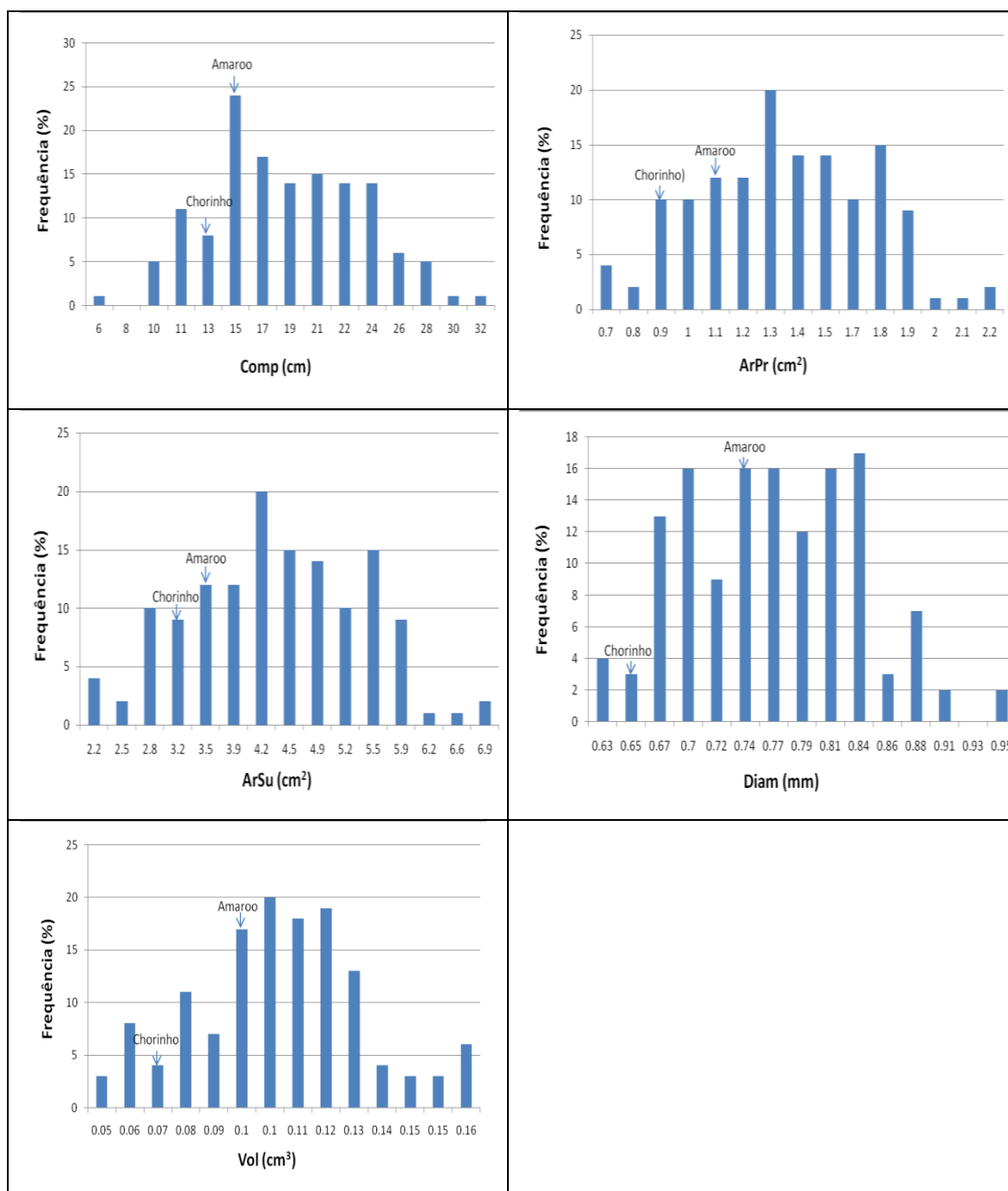


Figura 32 - Distribuição das frequências de parâmetros radiculares relativos durante a Germinação de Plântulas de linhagens puras recombinantes (RIL-F₇) sob estresse de frio. Comp=Comprimento de Raiz; ArPr= Área Projetada de Raiz; ArSu=Área Superficial de Raiz; Diam=Diâmetro Médio de Raiz; Vol=Volume de Raiz.

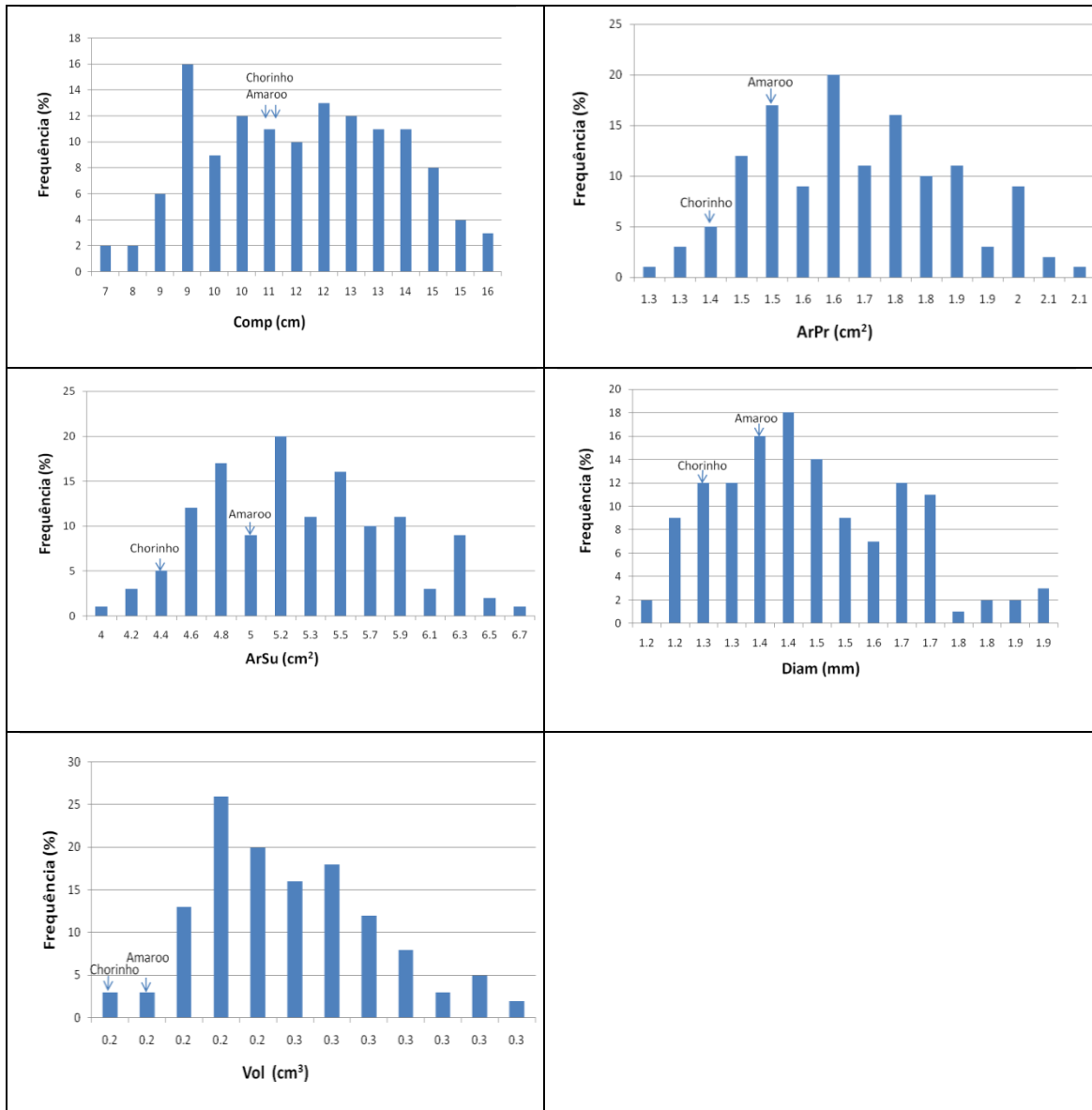


Figura 33 - Distribuição das frequências de parâmetros de parte aérea relativos durante a Germinação de Plântulas de linhagens puras recombinantes (RIL-F₇) sob estresse de frio. Comp=Comprimento de Parte aérea; ArPr=Área Projetada de Parte aérea; ArSu=Área Superficial de Parte aérea; DiaM=Diâmetro Médio de Parte aérea; Vol=Volume de Parte aérea.

As correlações entre os parâmetros de raiz e parte aérea mensurados durante a Germinação da Plântula foram significativas pelo teste *t*, com valores máximo de R^2 positivo entre as características Comprimento de raiz e Comprimento de parte aérea, com valor de 0,694. O menor valor encontrado foi para correlação negativa entre as características Diâmetro Médio de raiz e Área Projetada/Área Superficial de parte aérea, com valores de R^2 de -0,011. A característica de Volume de parte aérea não apresenta correlação significativa com as demais características radiculares. A característica Área Superficial de parte aérea não apresenta correlação significativa com Diâmetro médio e Volume de raiz. Diâmetro médio de parte aérea não está correlacionado com Volume de raiz, enquanto Diâmetro médio de raiz não se correlaciona com Área Projetada de parte aérea. As correlações foram estimadas pelo Coeficiente de Pearson a um nível de significância de 5% através do programa SAS (Tabela 41).

Tabela 41 - Coeficientes de correlação de Pearson (R^2) entre parâmetros de raiz e parte aérea mensurados após tratamento de estresse por frio em estádio de Germinação de plântula.

Raiz	Parte Aérea				
	Comp	ArPr	ArSu	DiaM	Vol
Comp	0,694**	0,500**	0,500**	-0,668**	-0,099
ArPr	0,666**	0,559**	0,559**	-0,562**	-0,079
ArSu	0,665**	0,561**	0,561**	-0,559**	0,017
DiaM	-0,341**	-0,011	-0,011	0,570**	0,338
Vol	0,419**	0,454**	0,454	-0,256	0,154

** : Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste *t*.

Efeito do estresse de frio na Capacidade de Recuperação do Crescimento de Plântulas - Nas avaliações de parâmetros de raiz e parte aérea, para estimar a Capacidade de Recuperação do Crescimento de Plântula sob estresse de frio, a variação causada pelas diferenças entre as linhagens nos diferentes ambientes foi altamente significativa para todas as características avaliadas (Tabelas 42 e 44). Não houve diferença significativa entre as repetições para as características analisadas de Área Projetada, Área Superficial e Diâmetro Médio de raiz, bem como para Volume de Parte Aérea. Em todos os parâmetros analisados, o desempenho do parental Amaroo foi sempre superior ao parental Chorinho (Tabelas 43 e 45).

Tabela 42 - Análise de variância de parâmetros radiculares relativos mensurados para avaliar a Capacidade de Recuperação do Crescimento de Plântulas de linhagens RILs submetidas a tratamentos com e sem estresse por frio.

Característica	Fonte variação	GL	SQ	QM	F	P
Comprimento	Repetição	2	537900,03	268950,01	469,44	<,000
	Ambiente	1	571925,90	571925,91	998,26	<,000
	Linhagem	143	288349,00	2016,42	3,52	<,000
	Linhagem x ambiente	133	99466,42	747,86	1,31	0,040
	Linhagem x repetição	282	192110,41	681,24	1,19	0,088
	Erro	781	2000773,23	572,92		
	Área projetada	Repetição	2	537900,03	1403,46	2,40
Ambiente		1	861,58	861,58	880,41	<,000
Linhagem		143	510,37	3,56	3,65	<,000
Linhagem x ambiente		133	173,73	1,30	1,33	0,029
Linhagem x repetição		282	320,78	1,13	1,16	0,120
Erro		781	3254,06	0,97		
Área superficial		Repetição	2	315,10	157,55	2,73
	Ambiente	1	8503,47	8503,47	880,37	<,000
	Linhagem	143	5037,41	35,22	3,65	<,000
	Linhagem x ambiente	133	1714,66	12,89	1,33	0,029
	Linhagem x repetição	282	3166,12	11,22	1,16	0,120
	Erro	781	32116,71	9,65		
	Diâmetro médio	Repetição	2	1,05	0,52	0,49
Ambiente		1	1,62	1,62	882,39	<,000
Linhagem		143	1,16	0,00	4,43	<,000
Linhagem x ambiente		133	0,27	0,00	1,12	0,220
Linhagem x repetição		282	0,45	0,00	0,88	0,836
Erro		781	5,77	0,00		
Volume		Repetição	2	1,40	0,70	381,76
	Ambiente	1	1,62	1,62	882,39	<,000
	Linhagem	143	1,16	0,00	4,43	<,000
	Linhagem x ambiente	133	0,27	0,00	1,12	0,220
	Linhagem x repetição	282	0,46	0,00	0,88	0,836
	Erro	781	4,01	0,00		

Tabela 43 - Valores médios de parâmetros radiculares mensurados para avaliar a Capacidade de Recuperação do Crescimento de Plântulas das cultivares parentais Chorinho e Amaro submetidas a tratamentos com estresse por frio.

Característica		Linhagens					CV%
		Chorinho	Amaroo	Mínimo	Média	Máximo	
Recuperação de Crescimento Radicular	Comp	34,60	47,41	19,67	56,62	121,86	27,82
	ArPr	1,77	2,29	1,31	3,05	5,72	23,55
	ArSu	5,39	7,19	4,13	9,60	17,99	23,55
	DiaM	0,50	0,53	0,44	0,57	0,71	8,13
	Vol	0,08	0,10	0,07	0,15	0,26	20,76

Tabela 44 - Análise de variância de parâmetros de parte aérea relativos mensurados para avaliar a Capacidade de Recuperação do Crescimento de Plântulas de linhagens RILs submetidas a tratamentos com e sem estresse por frio.

Característica	Fonte variação	GL	SQ	QM	F	P
Comprimento	Repetição	2	9830,82	4915,41	359,64	<,000
	Ambiente	1	32116,66	32116,66	2349,82	<,000
	Linhagem	143	18444,05	128,97	9,44	<,000
	Linhagem x ambiente	133	2811,73	21,14	1,55	0,002
	Linhagem x repetição	282	4487,55	15,91	1,16	0,118
	Erro	781	77921,43	13,66		
Área projetada	Repetição	2	111,36	55,68	211,82	<,000
	Ambiente	1	623,36	623,36	2371,36	<,000
	Linhagem	143	280,64	1,96	7,47	<,000
	Linhagem x ambiente	133	46,54	0,34	1,33	0,030
	Linhagem x repetição	282	85,46	0,30	1,15	0,133
	Erro	781	1332,15	0,26		
Área superficial	Repetição	2	1099,10	549,55	211,81	<,000
	Ambiente	1	6152,27	6152,27	2371,26	<,000
	Linhagem	143	2769,85	19,36	7,47	<,000
	Linhagem x ambiente	133	459,39	3,45	1,33	0,030
	Linhagem x repetição	282	843,47	2,99	1,15	0,133
	Erro	781	13147,87	2,59		
Diâmetro médio	Repetição	2	0,42	0,21	22,15	<,000
	Ambiente	1	1,36	1,36	143,07	<,000
	Linhagem	143	5,93	0,04	4,37	<,000
	Linhagem x ambiente	133	2,05	0,01	1,62	0,000
	Linhagem x repetição	282	2,28	0,00	0,85	0,894
	Erro	781	15,10	0,01		
Volume	Repetição	2	184,59	92,29	1,92	0,146
	Ambiente	1	7,75	7,75	1309,57	<,000
	Linhagem	143	4,40	0,03	5,20	<,000
	Linhagem x ambiente	133	1,25	0,01	1,60	0,001
	Linhagem x repetição	282	1,73	0,00	1,04	0,389
	Erro	781	18,77	0,00		

Tabela 45 - Valores médios de parâmetros de parte aérea mensurados para avaliar a Capacidade de Recuperação do Crescimento de Plântula das cultivares parentais Chorinho e Amaro submetidas a tratamentos com estresse por frio.

Característica	Chorinho	Amaroo	Linhagens			CV%	
			Mínimo	Média	Máximo		
Recuperação de Crescimento de Parte Aérea	Comp	20,48	29,65	19,62	27,72	39,38	10,64
	ArPr	2,23	2,98	2,11	3,18	4,71	12,35
de Parte Aérea	ArSu	7,01	9,37	6,65	9,99	14,79	12,35
	DiaM	1,08	1,03	0,82	1,14	1,55	8,18
	Vol	0,22	0,26	0,20	0,32	0,53	17,98

Foi observada segregação transgressiva, ou seja, linhagens que apresentaram desempenho superior ao da cultivar parental de valor mais elevado ou, por outro lado, linhagens com valores menores que os apresentados pela cultivar parental de menor valor. As características Comprimento, Área Projetada, Área Superficial, Diâmetro médio e Volume de parte aérea e de raiz na avaliação da Capacidade de Recuperação do Crescimento de Plântula, apresentam distribuição normal pela análise de simetria (Figuras 34 e 35). O teste de curtose foi significativo apenas para a característica de Diâmetro de parte aérea sob condição de estresse (Tabela 46 e 47).

Tabela 46 - Valores de simetria e curtose para a distribuição de frequência de parâmetros radiculares mensurados para avaliar a Capacidade de Recuperação do Crescimento de Plântula de linhagens puras recombinantes (RIL-F₇) sob condições controladas.

Simetria	Curtose	
	Valor <i>t</i>	Prob <i>p</i>
Comp	2,91	0,38
ArPr	2,36	1,72
ArSu	2,36	1,73
DiaM	0,37	71,3
Vol	1,79	6,99

Tabela 47 - Valores de simetria e curtose para a distribuição de frequência de parâmetros de parte aérea para avaliar a Capacidade de Recuperação do Crescimento de Plântula de linhagens puras recombinantes (RIL-F₇) sob de estresse por frio em condições controladas.

Simetria	Curtose	
	Valor <i>t</i>	Prob <i>p</i>
Comp	1,46	13,84
ArPr	1,58	10,94
ArSu	1,58	10,94
DiaM	2,62	0,86
Vol	3,42	0,07

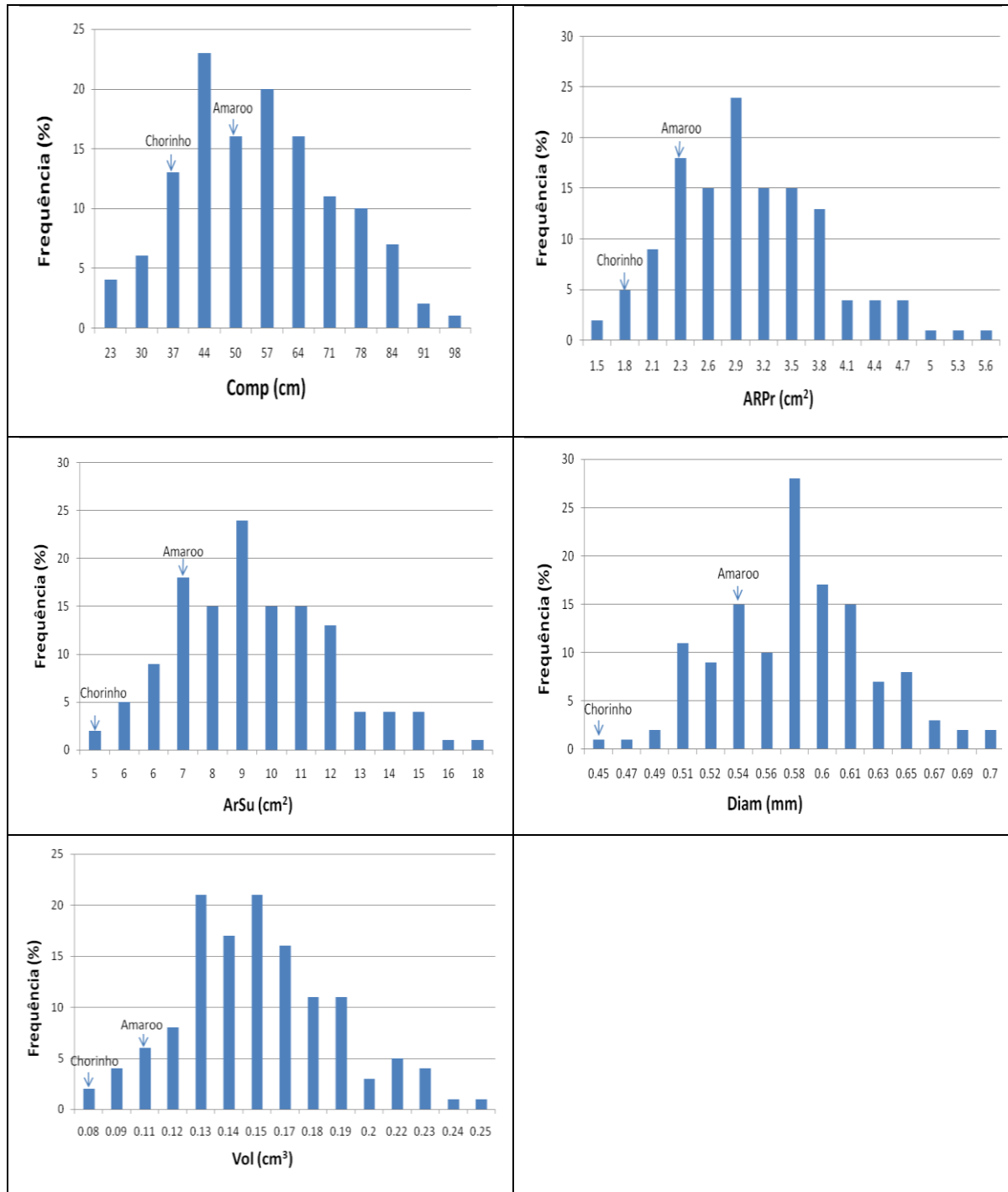


Figura 34 - Distribuição das frequências de parâmetros de raiz relativos durante a avaliação da Capacidade de Recuperação do Crescimento de Plântulas de linhagens puras recombinantes (RIL-F₇) sob estresse de frio. Comp=Comprimento de Raiz; ARPr= Área Projetada de Raiz; ArSu=Área Superficial de Raiz; Diam=Diâmetro Médio de Raiz; Vol=Volume de Raiz.

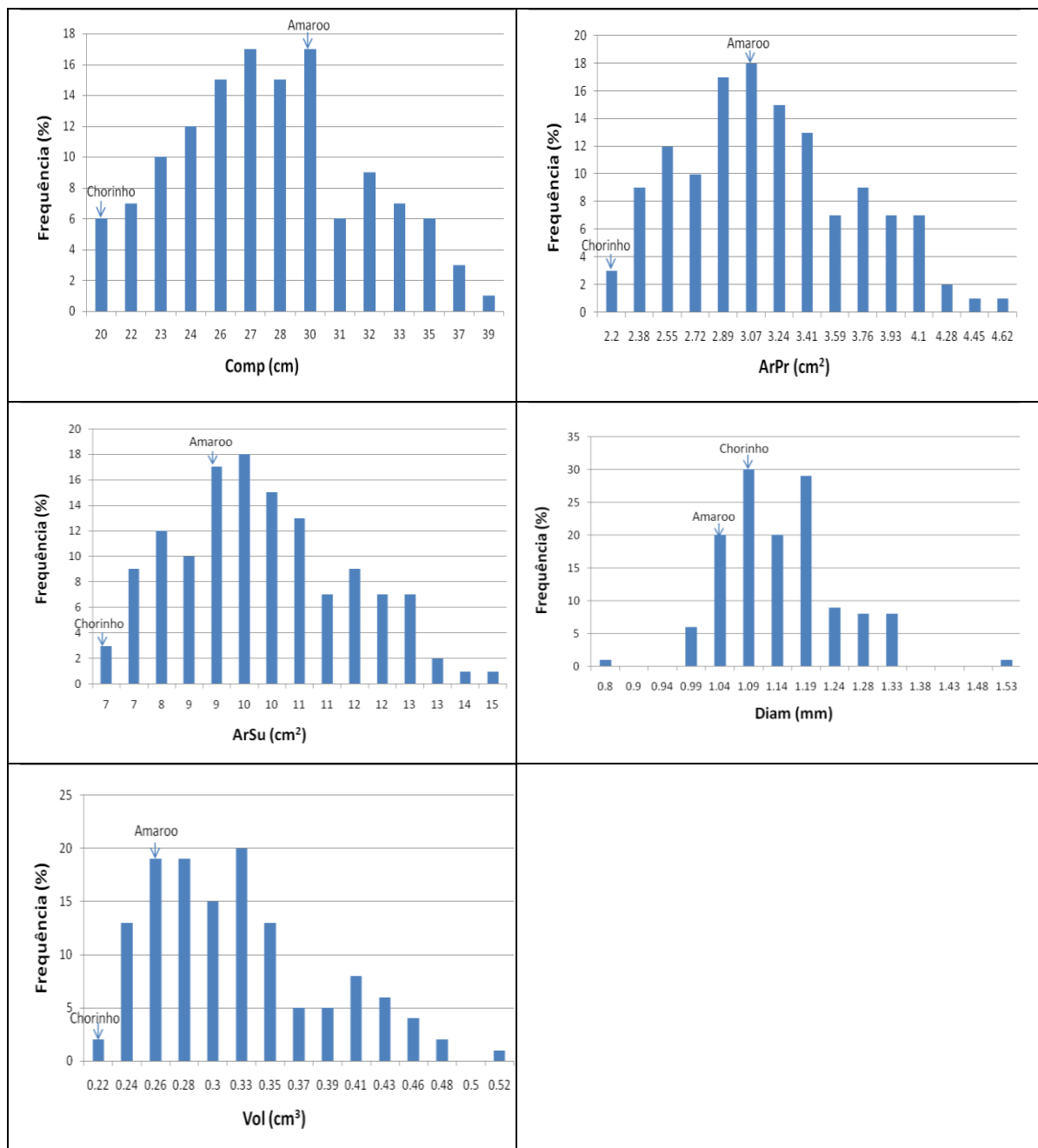


Figura 35 - Distribuição das frequências de parâmetros de parte aérea relativos durante a avaliação da Capacidade de Recuperação do Crescimento de Plântulas de linhagens puras recombinantes (RIL-F₇) sob estresse de frio. Comp=Comprimento de Parte aérea; ArPr= Área Projetada de Parte aérea; ArSu=Área Superficial de Parte aérea; Diam=Diâmetro Médio de Parte aérea; Vol=Volume de Parte aérea.

As análises de correlação entre os parâmetros de raiz e parte aérea mensurados durante a Germinação da Plântula demonstraram ser altamente significativas pelo teste *t*, com valores máximos de R^2 positivo entre as características de Área Projetada e Área Superficial de raiz e parte aérea, com valor de 0,724. O menor valor encontrado foi para

correlação positiva entre as características Volume de parte aérea e Diâmetro médio de raiz, com valor de R^2 de 0,112. As correlações entre a característica de Diâmetro médio de parte aérea e as demais características radiculares não foram significativas. As correlações foram estimadas pelo Coeficiente de Pearson a um nível de significância de 5% através do programa SAS (Tabela 48)

Tabela 48 - Coeficientes de correlação de Pearson (R^2) entre parâmetros de raiz (vertical) e parte aérea (horizontal) mensurados após tratamento de estresse por frio em estágio de Germinação de plântula para capacidade de recuperação do crescimento.

	Raiz		Parte Aérea		
	Comp	ArPr	ArSu	DiaM	Vol
Comp	0,644**	0,703**	0,703**	0,256	0,604**
ArPr	0,631**	0,724**	0,724**	0,324	0,655**
ArSu	0,630**	0,724**	0,724**	0,324	0,654**
DiaM	-0,444**	-0,347**	-0,347**	0,112	-0,163
Vol	0,526**	0,673**	0,673**	0,404	0,671**

** : Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste t.

2.9.1 Mapeamento de QTLs de tolerância ao frio com base em dados de Germinação e Capacidade de Recuperação de Crescimento de Plântulas coletados em condições controladas

Foram analisadas cinco características (Comprimento, Área Projetada, Área Superficial, Diâmetro Médio e Volume) de raiz e parte aérea na Germinação de Plântulas e na estimativa de Capacidade de Recuperação de Crescimento de Plântulas sob estresse de frio. As análises de Marca Simples e Intervalo Composto possibilitaram a detecção de marcadores microssatélites associados ao Comprimento, Área Projetada e Área Superficial de raiz e parte aérea de plântulas sob estresse de frio. Não foi detectada evidência significativa de QTLs associados às características Diâmetro Médio e Volume de raiz e parte aérea.

Observou-se que as regiões do genoma significativamente associadas com Comprimento, Área Projetada e Área Superficial de raiz e parte aérea durante a Germinação de Plântula e Capacidade de Recuperação de Crescimento de Plântulas eram praticamente as mesmas. Os valores altos e significativos de correlação entre estas características quando medidas em raiz e parte aérea sugeria esta possibilidade (Tabela

48). Isto indica que o investigador pode optar por utilizar uma ou outra característica, dependendo da dificuldade de obtenção de fenótipos, nos testes de germinação sob condições de frio. Por esta razão os dados de mapeamento de QTLs associados ao efeito do frio durante a Germinação de Plântulas e na Capacidade de Recuperação do Crescimento de Plântulas são apresentados em conjunto a seguir para estas três características (Comprimento, Área Projetada e Área Superficial).

Comprimento de Raiz e Parte Aérea na Germinação de Plântula e Capacidade de Recuperação de Crescimento de Plântulas

A análise de Marca Simples identificou cinco marcadores associados à característica de Comprimento radicular, localizados nos cromossomos 1 e 3, nas avaliações de Germinação de Plântula e Capacidade de Recuperação do Crescimento de Plântula (Tabela 49). Observou-se que um bloco de marcadores do cromossomo 7 com oito marcadores, cobrindo aproximadamente 20 cM, está significativamente associado a Comprimento radicular e de parte aérea sob condição de estresse de frio.

Tabela 49 - Marcadores microsatélites associados à característica Comprimento de raiz e parte aérea sob condição de estresse de frio nas avaliações de Germinação de Plântula e Capacidade de Recuperação do Crescimento de Plântula pela análise de Marca Simples

Marcador	Grupo de ligação	Posição (cM)	Prob (F)	Tratamento
RM338	1	0,0	*	RC
RM220	1	3,2	*	RC
RM1	1	4,3	**	RC
RM569	3	3,1	*	RC
RM231	3	7,0	**	LC
RM7338-OSR22	7	35,2-56,1	*	RC

* 1% significância / Demais locos com Significância de 5%

Tratamento: RC- raiz na Germinação de Plântula; LC- parte aérea na Germinação de Plântula; RRC- raiz na Capacidade de Recuperação do Crescimento da Plântula; LRC- parte aérea na Capacidade de Recuperação do Crescimento da Plântula.

Nas avaliações de Germinação de Plântula e Capacidade de Recuperação do Crescimento de Plântula, a análise de Mapeamento de Intervalo Composto identificou cinco marcadores associados à característica Comprimento radicular, localizados nos cromossomos 3 e 7 (Tabela 47). O mesmo QTL localizado no cromossomo 3 entre os marcadores OG66 e RM411 foi detectado pela análise dos dados de Comprimento de raiz (LOD 3,75) na Germinação de Plântula, e de Comprimento de raiz e parte aérea na avaliação da Capacidade de Recuperação do Crescimento de Plântula sob estresse de

frio (Tabela 50), este mesmo QTL foi detectado nas análises de viabilidade de pólen e apresenta marcadores fortemente associados à característica. O alelo proveniente do parental Chorinho no intervalo OG66 e RM411 tem efeito positivo no Comprimento de raiz e parte aérea.

Tabela 50 - Mapeamento de QTLs associados à característica Comprimento de raiz e parte aérea sob condição de estresse de frio nas avaliações de Germinação de Plântula e Capacidade de Recuperação do Crescimento de Plântula pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto.

Intervalo	Grupo de ligação	Posição cM	LOD	Efeito aditivo	R ² (%)	Tratamento
OG66 e RM411	3	0,0	3,75	-1,624	8,97	RC
RM22 e RM489	3	15,1	3,54	6,29	11,36	RRC
			3,58	1,21	8,24	LRC
RM7338 e RM11	7	52,5	3,52	6,097	11,21	RRC
RM182-RM7441	7	65,3	6,37	2,29	12,24	RC
			7,81	1,15	23,81	LC
			6,85	1,8744	20,32	LRC

Efeito aditivo refere-se à substituição de um alelo do parental Chorinho por um alelo do parental Amaro. Tratamento: RC- raiz na Germinação de Plântula; LC- parte aérea na Germinação de Plântula; RRC- raiz na Capacidade de Recuperação do Crescimento da Plântula; LRC- parte aérea na Capacidade de Recuperação do Crescimento da Plântula.

Outro QTL associado a Crescimento de raiz na Germinação da Plântula, e a Crescimento de raiz e parte aérea na Capacidade de Recuperação do Crescimento foi localizado entre os marcadores RM22 e RM489, com valores de LOD entre 3,54 e 3,78. A percentagem de variação fenotípica explicada pelos intervalos variou de aproximadamente 8,0 % para crescimento radicular na Germinação da Plântula e de 8 e 11% para Capacidade de Recuperação do Crescimento radicular e de parte aérea, respectivamente. No cromossomo 7 foi detectado um QTL para Comprimento de raiz na avaliação da Capacidade de Recuperação do Crescimento da Plântula, entre os marcadores RM7338 e RM11, com valor de LOD de 3,52

Nas avaliações de crescimento de raiz e parte aérea na Germinação da Plântula, assim como de crescimento de parte aérea na Capacidade de Recuperação de Crescimento da Plântula, foram detectados QTLs entre os marcadores RM182 e RM7441 com valores de LOD entre 6,37 e 7,81 (Figura 36).

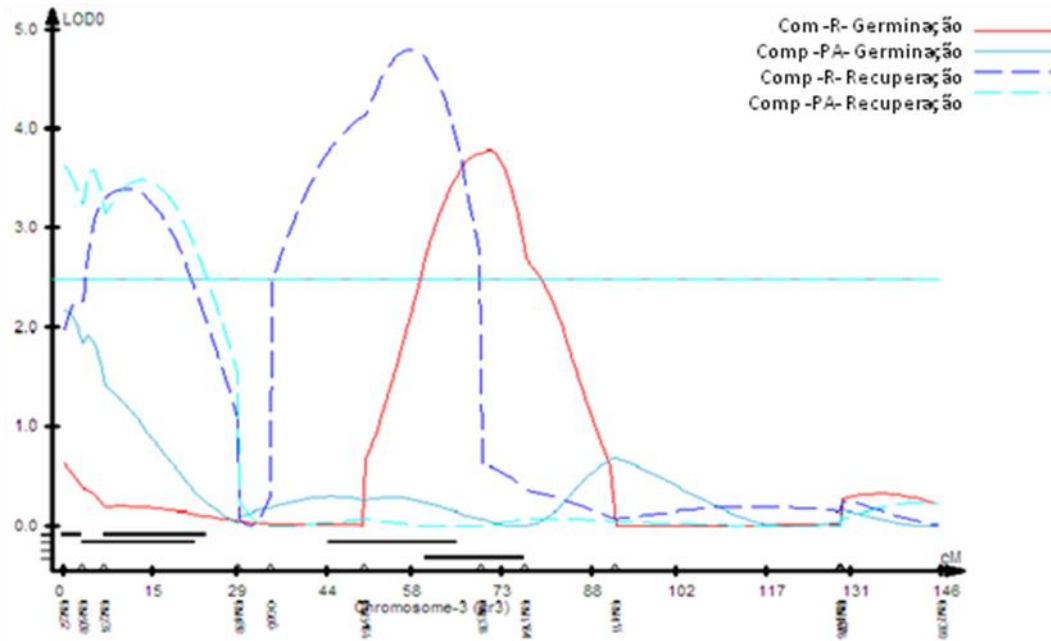


Figura 36 - QTLs identificados para a característica de Comprimento de raiz e parte aérea sob condição de estresse por frio, detectados no cromossomo 3 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto. O Valor de LOD utilizado foi de 2,5, representado pela linha horizontal. Onde: Comp-R-Germinação=Comprimento de raiz na Germinação da Plântula; Comp-PA-Germinação= Comprimento de parte aérea na Germinação da Plântula; Comp-R-Recuperação= Comprimento de raiz na Capacidade de Recuperação do Crescimento da Plântula ; Comp-PA-Recuperação= comprimento de parte aérea na Capacidade de Recuperação do Crescimento da Plântula.

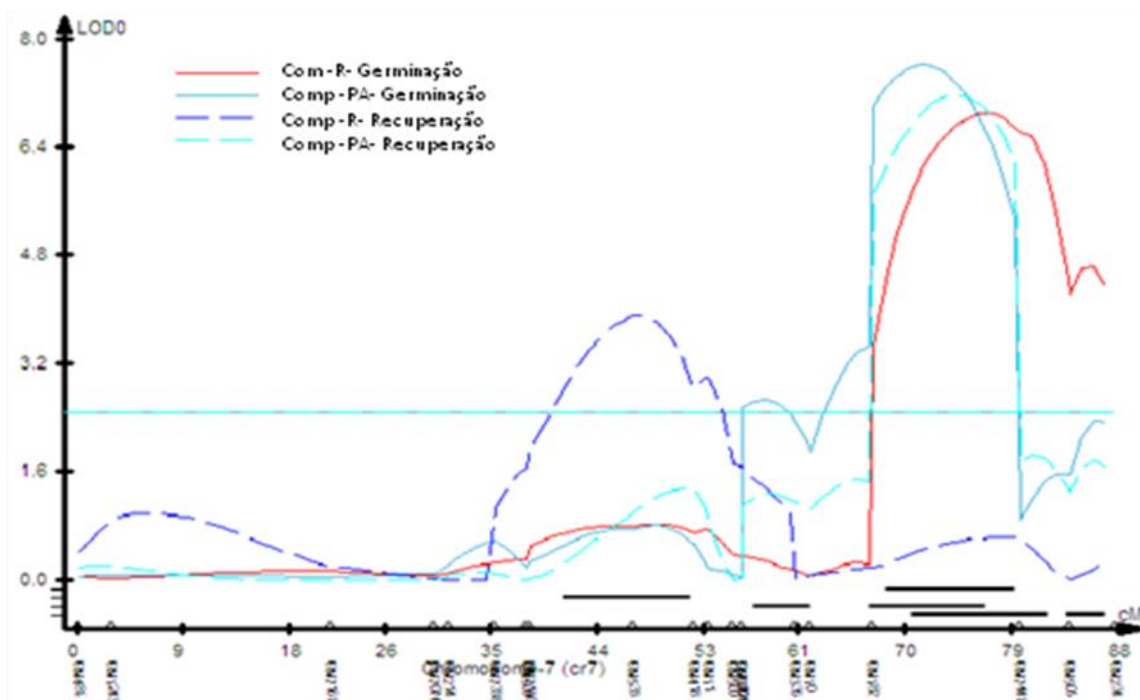


Figura 37 - QTLs identificados para a característica de Comprimento de raiz e parte aérea sob condição de estresse por frio, detectados no cromossomo 7 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto. O Valor de LOD utilizado foi de 2,5, representado pela linha horizontal. Onde: Comp-R-Germinação=Comprimento de raiz na Germinação da Plântula; Comp-PA-Germinação=Comprimento de parte aérea na Germinação da Plântula; Comp-R-Recuperação= Comprimento de raiz na Capacidade de Recuperação do Crescimento da Plântula; Comp-PA-Recuperação=comprimento de parte aérea na Capacidade de Recuperação do Crescimento da Plântula.

Área Projetada de Raiz e Parte Aérea na Germinação de Plântula e Capacidade de Recuperação de Crescimento de Plântulas

Doze marcadores associados à característica de Área Projetada de raiz e parte aérea foram localizados nos cromossomos 1, 3, 6, 7 e 9, com base na análise de Marca Simples (Tabela 51).

Tabela 51 - Marcadores microssatélites associados à característica Área Projetada de raiz e parte aérea sob condição de estresse de frio nas avaliações de Germinação de Plântula e Capacidade de Recuperação do Crescimento de Plântula pela análise de Marca Simples.

Marcador	Grupo de ligação	Posição (cM)	Prob (<i>F</i>)	Tratamento
RM338	1	0,0	*	RC
RM220	1	3,2	*	RC
RM1	1	4,3	**	RC
RM22	3	0,0	*	RC
RM569	3	3,1	*	RC
RM231	3	7,0	*	LC
RM204	6	11,1	**	LC
RM225	6	11,6	*	LRC
RM7338-OSR22	7	35,2-56,1	*	RC
RM242	9	56,0	*	RC
OSR28	9	58,4	**	RC
RM201	9	59,7	**	RC

* 1% significância / Demais locos com Significância de 5%

Tratamento: RC- raiz na Germinação de Plântula; LC- parte aérea na Germinação de Plântula; RRC- raiz na Capacidade de Recuperação do Crescimento da Plântula; LRC- parte aérea na Capacidade de Recuperação do Crescimento da Plântula.

Nas avaliações de Germinação de Plântula e Capacidade de Recuperação do Crescimento de Plântula, a análise de Mapeamento de Intervalo Composto identificou dois QTLs associados à característica Área Projetada nos grupos de ligação 3 e 7 para todas as avaliações, com exceção de Área Projetada de parte aérea, localizados entre os marcadores RM22 e RM489 (Cr3) e RM7338 e RM11 (Cr7). Os valores significativos de LOD variaram de 2,68 a 7,35 (Figura 38). Os efeitos aditivos para crescimento da Área Projetada de raiz e parte aérea sob estresse de frio foram provenientes do parental Chorinho. O intervalo RM22 e RM489 no cromossomo 3 explica 21,62% da variação fenotípica para Área Projetada de raiz e parte aérea sob condição de estresse de frio nas avaliações de Germinação de Plântula e Capacidade de Recuperação do Crescimento de Plântula

Tabela 52 - Mapeamento de QTLs associados à característica Área Projetada de raiz e parte aérea sob condição de estresse de frio nas avaliações de Germinação de Plântula e Capacidade de Recuperação do Crescimento de Plântula pelo modelo de Mapeamento de Intervalo Composto.

Intervalo	Grupo de ligação	Posição cM	LOD	Efeito aditivo	R ² (%)	
RM22 e RM489	3	0,0	7,35	0,297	21,62	qCTLRC
			3,15	0,2527	9,05	qCTRRC
			2,93	0,1141	7,67	qCTRC
RM7338 e RM11	7	55,5	4,21	0,138	10,9983	qCTRC
		53,2	3,85	0,200	9,7745	qCTLRC
		48,3	2,68	0,255	9,0579	qCTRRC

Efeito aditivo refere-se à substituição de um alelo do parental Chorinho por um alelo do parental Amaro

Tratamento: RC- raiz na Germinação de Plântula; LC- parte aérea na Germinação de Plântula; RRC- raiz na Capacidade de Recuperação do Crescimento da Plântula; LRC- parte aérea na Capacidade de Recuperação do Crescimento da Plântula.

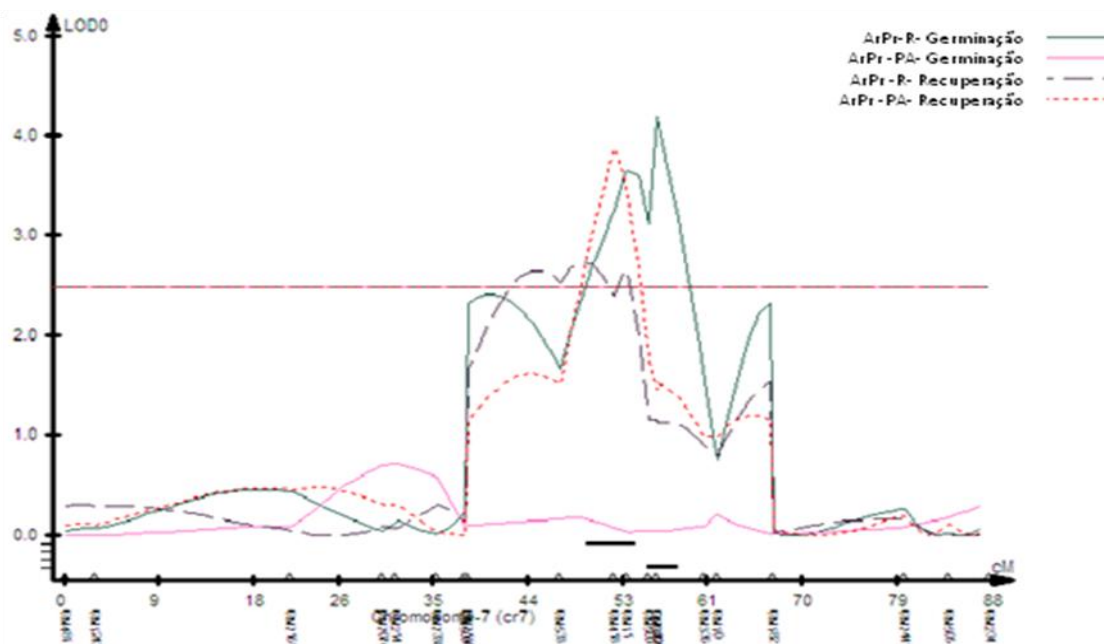


Figura 38 - QTLs identificados para a característica de Área Projetada de raiz e parte aérea sob condição de estresse por frio, detectados no cromossomo 7 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto. O Valor de LOD utilizado foi de 2,5, representado pela linha horizontal. ArPr-R-Germinação=Área projetada de raiz na Germinação da Plântula; ArPr-PA-Germinação=Área projetada de parte aérea na Germinação da Plântula; ArPr-R-Recuperação=Área projetada de raiz na Capacidade de Recuperação do Crescimento da Plântula; ArPr-PA-Recuperação=Área projetada de parte aérea na Capacidade de Recuperação do Crescimento da Plântula.

Área Superficial de Raiz e Parte Aérea na Germinação de Plântula e Capacidade de Recuperação de Crescimento de Plântulas

Três marcadores associados à característica de Área Superficial de raiz e parte aérea foram localizados nos cromossomos 3, com base na análise de Marca Simples (Tabela 53). Uma região genômica com marcadores no intervalo RM7338-OSR22 do cromossomo 7 apresentou vários marcadores associados à característica.

Tabela 53 - Marcadores associados à característica de área superficial de raiz e área superficial de parte aérea sob condição de estresse nas avaliações de crescimento e recrescimento pela análise de marca simples

Marcador	Grupo de ligação	Posição (cM)	Prob (F)	Tratamento
RM22	3	0,0	*	RC
RM569	3	3,1	*	RC
RM231	3	7,0	*	RC
RM7338-OSR22	7	35,2-56,1	*	LRC

* 1% significância / Demais locos com Significância de 5%

Tratamento: RC- raiz na Germinação de Plântula; LC- parte aérea na Germinação de Plântula; RRC- raiz na Capacidade de Recuperação do Crescimento da Plântula; LRC- parte aérea na Capacidade de Recuperação do Crescimento da Plântula.

Nas avaliações de Germinação de Plântula e Capacidade de Recuperação do Crescimento de Plântula, a análise de Mapeamento de Intervalo Composto identificou dois QTLs associados à característica Área Superficial nos grupos de ligação 3 e 7 para todas as avaliações (Tabela 54).

Tabela 54 - Dados sobre QTLs detectados para a característica de área superficial em linhagens sob estresse por frio em câmara fria detectados pelo modelo de Mapeamento de Intervalo Composto.

Intervalo	Grupo de ligação	Posição cM	LOD	Efeito aditivo	R ² (%)	
RM22 e RM489	3	0,0	6,0	0,681	14,872	qCTLRC
			3,95	0,892	11,88	qCTRRC
			2,5	0,678	14,87	qCTRC
RM7338 e RM11	7	46,7	2,65	0,698	7,462	qCTRRC
			50,1	2,43	0,428	5,88

Efeito aditivo refere-se à substituição de um alelo do parental Chorinho por um alelo do parental Amaro
 q = QTL/CT = cold tolerance - RC-crescimento raiz LC- crescimento folha RRC- recrescimento raiz
 LRC- recrescimento folha

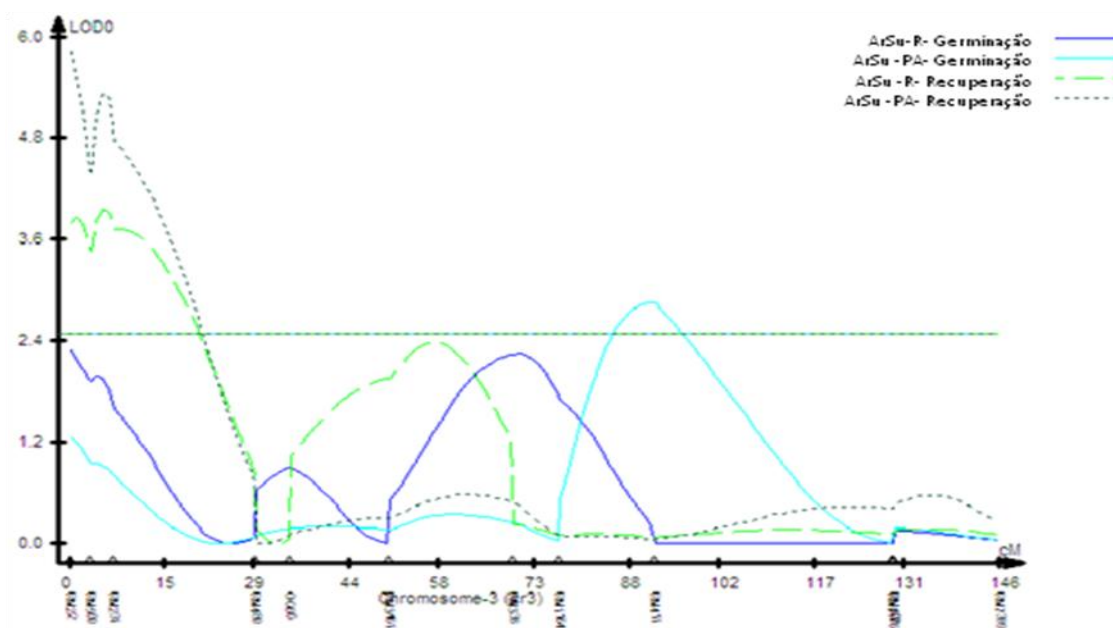


Figura 39 - QTLs identificados para a característica de Área Superficial de raiz e parte aérea sob condição de estresse por frio, detectados no cromossomo 3 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto. O Valor de LOD utilizado foi de 2,5, representado pela linha horizontal. ArSu-R-Germinação=Área superficial de raiz na Germinação da Plântula;ArSu-PA-Germinação= Área superficial de parte aérea na Germinação da Plântula; ArSu-R-Recuperação= Área superficial de raiz na Capacidade de Recuperação do Crescimento da Plântula; ArSu-PA-Recuperação=Área superficial de parte aérea na Capacidade de Recuperação do Crescimento da Plântula.

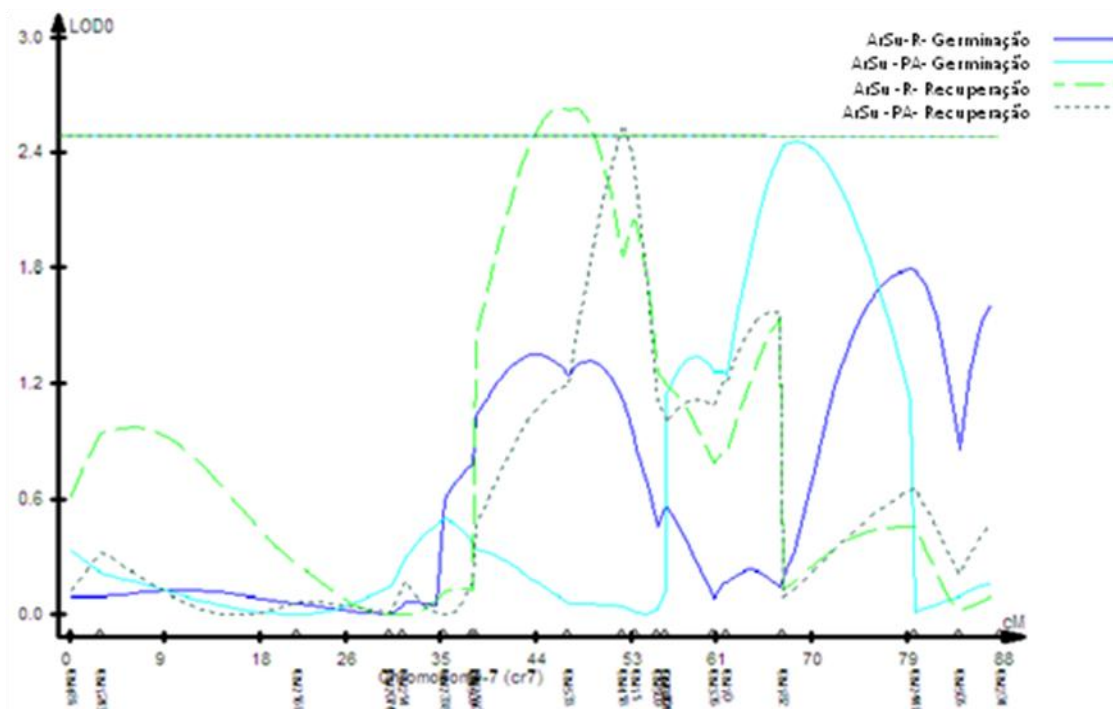


Figura 40 - QTLs identificados para a característica de Área Superficial de raiz e parte aérea sob condição de estresse por frio, detectados no cromossomo 7 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto. O Valor de LOD utilizado foi de 2,5, representado pela linha horizontal. ArSu-R-Germinação=Área superficial de raiz na Germinação da Plântula;ArSu-PA-Germinação= Área superficial de parte aérea na Germinação da Plântula; ArSu-R-Recuperação= Área superficial de raiz na Capacidade de Recuperação do Crescimento da Plântula; ArSu-PA-Recuperação=Área superficial de parte aérea na Capacidade de Recuperação do Crescimento da Plântula

Foi possível identificar três QTLs localizados nos cromossomos 3 e 7 nas análises de Comprimento, Área Projetada e Área Superficial de raiz e parte aérea (Figura 40). Os dados mostraram-se consistentes entre as avaliações feitas na Germinação da Plântula e na Capacidade de Recuperação do Crescimento da Plântula das populações de linhagens puras recombinantes submetidas a estresse de frio em condições controladas. A alta correlação entre estas três características (Comprimento, Área Projetada e Área Superficial – Tabela 48) quando medida em raiz e parte aérea, e o mapeamento de QTLs na mesma região dos cromossomos 3 e 7 (Figura 40) indica que não há necessidade de mensurar todas estas características para dissecar o controle de tolerância ao frio durante a germinação.

É importante notar que o QTL localizado no cromossomo 3 foi detectado no estudo de tolerância ao frio em condições de campo desenvolvido no presente trabalho,

associado às características Viabilidade de Pólen e Peso Parcial da Panícula. Este QTL encontra-se também na mesma região de QTL de tolerância ao frio detectado por DAI *et al.* (2005) com marcadores RFLP. Já o QTL localizado no cromossomo 7 não foi identificado para nenhuma característica estudada no presente trabalho de tolerância ao frio nas condições distintas dos experimentos. Uma ilustração da posição dos QTLs mapeados no presente estudo é apresentada na Figura 41.

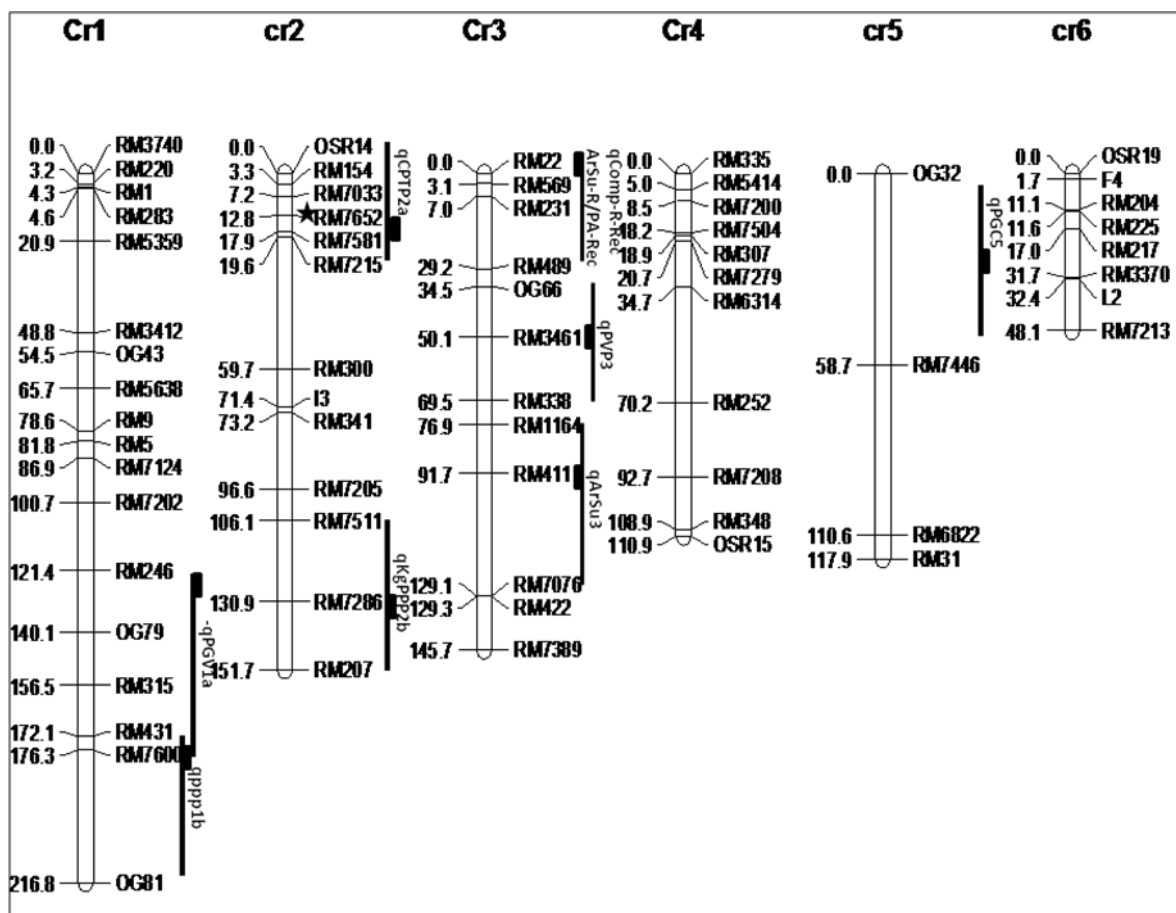


Figura 41a - Mapa genético de *Oryza sativa* baseado na população RIL Chorinho x Amaro com representação dos QTLs (barra à direita da representação cromossômica) e marcadores (marcados com estrela) associados a componentes de produtividade e viabilidade de pólen de linhagens arroz sob estresse por frio a campo e a características radiculares e de parte aérea em análises sob condições controladas. Características avaliadas no campo: PTP=Peso Total de Panícula; PPP=Peso Parcial de Panícula; KgPPP=Produtividade Parcial; KgPTP=Produtividade Total; NGC=Número de Grãos Cheios; PGC=Peso de Grãos Cheios; NGV=Número de Grãos Vazios; PGV=Peso de Grãos Vazios; VP=Viabilidade de Pólen. Características avaliadas em condições controladas: Comp= Comprimento; ArPr= Área Projetada; ArSu= Área Superficial; DiaM= Diâmetro médio; Vol= Volume.

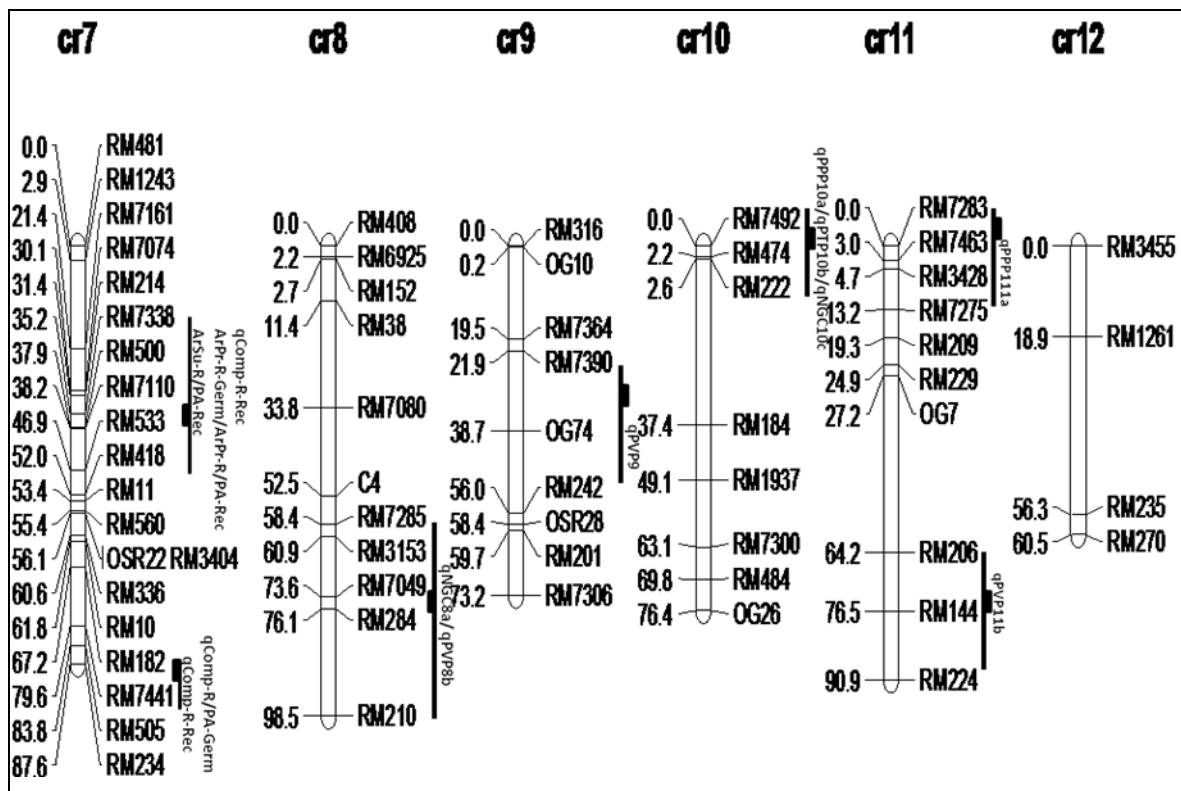


Figura 41b - Mapa genético de *Oryza sativa* baseado na população RIL Chorinho x Amaro com representação dos QTLs (barra à direita da representação cromossômica) e marcadores (marcados com estrela) associados a componentes de produtividade e viabilidade de pólen de linhagens arroz sob estresse por frio a campo e a características radiculares e de parte aérea em análises sob condições controladas. Características avaliadas no campo: PTP=Peso Total de Panícula; PPP=Peso Parcial de Panícula; KgPPP=Produtividade Parcial; KgPTP=Produtividade Total; NGC=Número de Grãos Cheios; PGC=Peso de Grãos Cheios; NGV=Número de Grãos Vazios; PGV=Peso de Grãos Vazios; VP=Viabilidade de Pólen. Características avaliadas em condições controladas: Comp= Comprimento; ArPr= Área Projetada; ArSu= Área Superficial; Diam= Diâmetro médio; Vol= Volume.

2.10 CONCLUSÕES

Os ensaios de tolerância ao frio em condições de campo e em condições controladas de temperatura desenvolvidos no presente trabalho permitiram estudar a característica em fases de maior sensibilidade das plantas ao estresse (germinação e estágio reprodutivo). O ensaio de campo possibilitou detectar genótipos transgressivos para tolerância ao estresse que podem ser explorados pelos programas de melhoramento genético.

O desenvolvimento do mapa genético baseado em linhagens puras recombinantes juntamente com os parâmetros fenotípicos avaliados sob condição de estresse ao frio em campo e em condições controladas permitiu a detecção de QTLs de tolerância ao frio distribuídos no genoma de arroz (Figura 41). Foram detectadas oito regiões nas avaliações de parâmetros de produtividade e quatro regiões nas análises de viabilidade de pólen, com uma região em comum na análise entre dos dois parâmetros. Alguns dos QTLs de tolerância a frio, detectados no presente trabalho em condições de campo, foram também identificados em outros estudos de tolerância de arroz a baixas temperaturas, como o intervalo OG66-RM338 no braço curto do cromossomo 3 (Viabilidade de Pólen), RM7492-RM222 no cromossomo 10 (Peso de Panícula e Número de Grãos Cheios) e RM7283-RM7275 no cromossomo 11 (Peso de Grãos) (Tabela 34). Estes QTLs encontram-se na mesma região genômica de QTLs detectados em outros experimentos de tolerância ao frio, desenvolvidos em diferentes locais com a utilização de diferentes populações de arroz. A complementação dessas informações deve auxiliar a validação de QTLs associados ao controle da característica. Os dados obtidos possibilitam o desenvolvimento e teste de estratégia de seleção assistida por marcadores para tolerância a frio em arroz.

Nos estudos de tolerância ao frio em condições controladas foi possível detectar quatro QTLs associados ao controle da característica. Um dos QTLs localizados no cromossomo 3 (RM22-RM489) também foi detectado no estudo de tolerância ao frio em condições de campo, associado às características Viabilidade de Pólen e Peso Parcial da Panícula. Este QTL encontra-se também na mesma região do genoma associada a tolerância a frio detectada por DAI et al. (2005).

CAPÍTULO 3

Mapeamento de QTLs de tolerância à seca em população de linhagens puras recombinantes derivada do cruzamento entre as variedades tradicionais Chorinho e Puteca

3.1 JUSTIFICATIVA

Tolerância à seca refere-se à capacidade da planta de manter a produção de grãos sob condição de pouca disponibilidade de água em estádios críticos para o seu desenvolvimento (PRICE *et al.*, 2002). Em situação de estresse, a planta pode responder através de mecanismos fisiológicos e morfológicos para reduzir os efeitos do estresse, por isso é importante compreender as características que contribuem para a maior eficiência no uso da água em um determinado genótipo (LUDLOW & MUCHOW, 1990). As avaliações do desempenho da produtividade de um determinado genótipo em relação a outros genótipos sob a mesma condição de estresse hídrico (LEVITT, 1972) têm sido usadas para seleção a campo de plantas tolerantes à seca. Tolerância à seca é uma característica de controle genético complexo, controlada por diversos genes de menor ou maior efeito e com forte interação com o ambiente. O conhecimento do controle genético de tolerância à seca é de elevada importância para o melhoramento de arroz (*Oryza sativa* L.).

Uma estratégia potencialmente eficiente para compreender a genética de tolerância à seca é o mapeamento das regiões do genoma responsáveis pelo seu controle utilizando marcadores moleculares. A informação de mapa tem sido usada para desenvolver sistemas de seleção indireta para fenótipos de grande dificuldade de análise (FERREIRA, 2003). O mapeamento de genes e regiões genômicas que controlam características de interesse, sejam elas qualitativas ou quantitativas, tem sido empregado na identificação de regiões do genoma associadas à característica de interesse, ao isolamento de genes por clonagem posicional e ao emprego das informações de mapa em seleção assistida por marcadores moleculares (TANKSLEY *et al.*, 1989;

FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1996). O mapeamento permite localizar regiões genômicas específicas que flanqueiam os locos de características quantitativas (QTL) permitindo o uso de marcadores associados à característica para seleção assistida ou isolamento e estudo detalhado dos genes envolvidos no controle da característica. As análises de componentes de tolerância à seca podem auxiliar na definição de novas estratégias de seleção para uma característica de difícil avaliação no campo.

A eficiência da identificação e isolamento de genes de características quantitativas via mapeamento genético e clonagem posicional depende, entre outros fatores, da herdabilidade da característica, da disponibilidade de marcadores moleculares distribuídos ao longo do genoma, da análise de um grande número de indivíduos em diferentes gerações de populações segregantes, do potencial desenvolvimento de mapas físicos e da fenotipagem de plantas sob estresse na fase adequada de desenvolvimento biológico. Neste capítulo, uma população de Linhagens Puras Recombinantes (RILs- F_7) provenientes do cruzamento entre os genótipos Chorinho e Puteca foi utilizada para a fenotipagem de parâmetros radiculares em condições de restrição hídrica, e comparadas com tratamento controle. A avaliação do sistema radicular da planta na análise de tolerância à seca é complexa e intensiva em trabalho. O emprego de dados de desenvolvimento radicular tem potencial na compreensão dos mecanismos de tolerância à seca. Um grande esforço foi realizado na análise de desenvolvimento radicular em duas profundidades de solo no campo. Um mapa genético previamente desenvolvido para a população RIL Chorinho x Puteca com o uso de marcadores microssatélites (PESSOA FILHO, 2008) foi utilizado para a análise de QTLs com o objetivo de localizar regiões que controlam a característica e avaliar o seu potencial uso em programas de seleção assistida para tolerância à seca em arroz.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Material Biológico: População de Linhagens Puras Recombinantes de Arroz (RIL - Recombinant Inbred Lines) –A população CNAx13201, constituída por linhagens puras recombinantes (geração F_7) derivadas do cruzamento entre as cultivares

Chorinho e Puteca (RIL Chorinho x Puteca) foi utilizada para identificar regiões genômicas associadas ao controle de tolerância à seca em arroz. A variedade tradicional brasileira Chorinho (CA800103) pertencente à subespécie *japonica* tropical, foi coletada pelo sistema de conservação de recursos genéticos da Embrapa sob cultivo de sequeiro em Minas Gerais. Esta variedade é mais tolerante à seca do que a variedade Puteca. A variedade tradicional Puteca (CA780217) também pertence à subespécie *japonica* tropical, tendo sido coletada no sistema de produção de sequeiro no Estado de Goiás.

No presente estudo, foram usadas 187 linhagens puras recombinantes obtidas por sucessivas autofecundações de plantas F₁ originadas do cruzamento de um indivíduo da cultivar Chorinho com um indivíduo da cultivar Puteca. Os cruzamentos foram realizados na Embrapa Arroz e Feijão (Santo Antônio de Goiás – GO), onde as sementes F₂ foram avançadas até a geração F₇. A metodologia utilizada foi a de descendência única por planta (*SSD – Single Seed Descendent*) descrita por BRIM (1966), onde uma semente de cada planta de geração F₂, escolhida ao acaso, foi semeada em vaso e as gerações avançadas por autofecundação até a geração F₆. As sementes em F₆ foram multiplicadas para a obtenção de um número maior de sementes F_{6:7} para a condução dos experimentos de fenotipagem, em que testou-se a segregação esperada nas linhagens de 1:1 entre os alelos doados pelos acessos Chorinho e Puteca.

3.2.2 Extração de DNA

Os protocolos de extração de DNA foram descritos por PESSOA FILHO (2008). Em síntese, para a extração de DNA, aproximadamente 150 mg de folhas de plântulas de arroz germinadas em placas de Petri foram utilizadas para a extração de ácidos nucléicos baseada no protocolo CTAB (FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1998). As amostras de folhas foram pulverizadas em máquina “*FastPrep*” BIO101 com o uso de esferas de cerâmica juntamente com 700 µL de tampão CTAB 2X (2% acetyldimethyl tiethylammonium bromide – CTAB, 1,4 M NaCl, 20 mM EDTA, 100 mM Tris-HCl pH=8,0 1% polyvinylpyrrolidone, 0,2% 2-mercaptoethanol). As amostras foram incubadas por 50 min a 65°C para a solubilização e homogeneização da suspensão, com agitação a cada 10 min. Com as amostras em temperatura ambiente, foi adicionado 600 µL de clorofórmio-álcool isoamílico (24:1) à cada amostra e centrifugação a 11.000 rpm durante 10 min. O sobrenadante foi transferido para um novo tubo e os ácidos nucléicos

foram precipitados com 400 μL de isopropanol. Foi obtido o precipitado (“pellet”) após centrifugação a 11.000 rpm durante 15 min, que foi lavado duas vezes com 500 μL de etanol 70% e secado “overnight” a temperatura ambiente. Os “pellets” foram eluídos com tampão TE (10mM Tris-HCl, pH=8,0, 1 mM EDTA) e tratados com RNase (10mg/mL) para degradação do RNA por três horas a temperatura ambiente. A concentração de DNA foi estimada em eletroforese em gel de agarose 1% contendo brometo de etídeo (0,15 $\mu\text{g}/\text{mL}$) (SAMBROOK *et al.*, 1989), utilizando padrões de 100 e 200 ng. O DNA para reação de polimerase em cadeia foi diluído em água MilliQ para uma concentração final de 2ng/ μL .

3.2.3 PCR e análise de fragmentos de marcadores microsatélites de arroz

Um conjunto de 441 marcadores microsatélites, marcados com três diferentes fluorocromos (6-FAM-azul, HEX-verde e NED-amarelo) e descritos no Capítulo I, foi primeiramente avaliado com o software Multiplexer (COELHO, A., UFGO, não publicado) para a formação de conjuntos de locos em triplex para a identificação de marcadores polimórficos entre as cultivares parentais Chorinho e Puteca. Esta análise minimizou o número de reações, possibilitando a avaliação de um número significativo de marcadores para uso em PCRs simultâneos.

Os marcadores em painel triplex foram testados na genotipagem de uma amostra de 28 acessos do Banco de Germoplasma de Arroz, constituída por cultivares, linhagens e variedades tradicionais cultivadas em sistemas de produção de arroz irrigado e de sequeiro, incluindo as cultivares Chorinho e Puteca (Capítulo I, Tabela 1). Os marcadores que detectavam polimorfismo de sequência de DNA entre as cultivares Chorinho e Puteca foram selecionados para genotipagem da população RIL. O DNA extraído de cada acesso seguiu o protocolo descrito anteriormente. As amplificações de cada painel triplex foram realizadas em um volume total de reação de 6 μL , utilizando-se 4 ng de DNA, tampão 1X (10 mM Tris/HCl pH 8,3 50mM de KCl), dNTP 0,4 mM, BSA 0,2 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, MgCl_2 1,5 mM, *Taq* polimerase 2U (Phoneutria, Belo Horizonte-MG) e água milliQ autoclavada.

As concentrações dos iniciadores no volume final de reação foram 0,13 μM (6-Fam e Ned) e 0,26 μM (Hex). As reações de amplificação foram feitas em placas de PCR para 384 amostras em termociclador GeneAmp PCR System 9700 (Perkin-Elmer), com bloco para duas placas de 384. O seguinte programa de termociclador foi usado para a amplificação de produtos de PCR: (1) 94°C por 5 min, (2) 94°C por 1 min (3) 52°C-67°C por 1min, conforme temperatura de anelamento do iniciador (4) 65°C por 2 min, (5) passos 2, 3 e 4 por 30 vezes e (6) 65°C por 7 min.

A detecção dos fragmentos amplificados foi realizada em seqüenciadores automáticos de DNA modelos ABI Prism 377 e ABI 3700. O carregamento dos géis no seqüenciador ABI Prism 377 empregou uma alíquota de 2 μl de produto de PCR misturada com 2 μl de mix (1 μl de tampão de carregamento -98% formamida, 10 mM EDTA-blue dextran- e 1 μl de um marcador padrão de tamanho conhecido produzido no próprio laboratório (BRONDANI & GRATTAPAGLIA, 2001)). A reação foi desnaturada por 5 min em termociclador ABI 9700 e uma alíquota de ≈ 3 μl de amostras carregada em géis de poliacrilamida “Long Ranger” a 4% em tampão TBE 1X. No seqüenciador ABI 3700 os fragmentos de DNA foram detectados com base em alíquotas de 1 μl de produto de PCR diluídas 5x, seguida da adição de um volume total de 9 μl de mix (8 μl de HIDI com 0,35 μl de marcador padrão e 0,65 μl de ddH₂O), desnaturadas por 5 minutos. Os produtos foram eletroinjetados em seqüenciador automático de DNA (ABI 3700, Applied Biosystems) e utilizado o filtro D para captação da emissão das fluorescências. As eletroforeses foram realizadas a 3.000 V por aproximadamente 2h30 min.

3.2.4 Genotipagem da população RIL Chorinho x Puteca com marcadores microssatélites

Os protocolos de genotipagem da população RIL Chorinho x Puteca com marcadores microssatélites foram descritos por PESSOA FILHO (2008). Em síntese, marcadores microssatélites que detectaram polimorfismo de DNA entre as cultivares Chorinho e Puteca foram organizados em painéis triplexes e utilizados na genotipagem da população RIL Chorinho x Puteca através de eletroforese em gel de poliacrilamida no seqüenciador automático de DNA ABI 377. As reações de amplificação utilizaram

volume total de reação de 6 μL , utilizando-se 2 ng de DNA, tampão 1X (10 mM Tris/HCl pH 8,3 50mM de KCl), dNTP 0,4 mM, BSA 0,2 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, MgCl_2 1,5 mM, Taq polimerase 2 U (Phoneutria, Belo Horizonte-MG) e água milliQ autoclavada. As concentrações dos iniciadores variaram entre 0,13 μM (6-Fam), 0,13 μM (Ned) e de 0,26 μM (Hex). As reações de amplificação foram feitas em termociclador GeneAmp PCR System 9700 (Perkin-Elmer), usando-se o seguinte programa: (1) 94°C por 5 min, (2) 94°C por 1 min (3) 52°C -56°C por 1min (4) 65°C por 2 min, (5) passos 2, 3 e 4 por 30 vezes e (6) 65°C por 7 min. As temperaturas de anelamento utilizadas foram baseadas nas informações de cada marcador que variaram de 50 a 67°C. Dois microlitros de produto amplificado foi misturado com 2 μL da combinação (1,3:0,7) de tampão (formamida, EDTA 10mM e blue dextran) com padrão interno de tamanho conhecido com 12 fragmentos - PSport, desenvolvido por Grattapaglia (2007-comunicado pessoal), seguida de desnaturação a 95°C por 5 min. Alíquotas de 3 μL de cada amostra foram colocadas em bandeja (Gel Company- 96 well) com auxílio de seringa multicanal (Kloehn- 8 agulhas) e capturadas com pente de membrana da Gel Company de 96 dentes para corridas em gel de agarose 4%, com tampão TBE 1X em seqüenciador automático de DNA ABI Prism 377, utilizando filtro D em 2 h de eletroforese. Os fragmentos foram analisados e genotipados nos programas da Applied Biosystems - GeneScan (versão 3.1.2) e Genotyper (versão 2.5.2), respectivamente.

3.2.5 Construção de mapa de ligação

O mapa de ligação utilizado neste trabalho para a detecção de locos de características quantitativas (QTLs) de tolerância à seca foi desenvolvido por PESSOA-FILHO (2008). Para a construção do mapa de ligação, foram testados em cada loco os desvios das proporções esperadas 1:1 na segregação de alelos de Chorinho e Puteca na população de linhagens RIL com o uso do programa WinQTLCart (v.2.5- 2001\2007). O teste de FDR, ou razão de falsas descobertas, foi utilizado como critério de ajuste para correção de erro do tipo I (BENJAMINI & HOCHBERG, 1995), e o nível de significância para os testes de distorção de segregação foi de 1%. Foram considerados para análise de ligação apenas os marcadores com menos de 20% de dados faltantes. Para análise de ligação entre locos de marcadores moleculares, empregou-se um valor mínimo de LOD = 3,0 no programa MAPMAKER para MacIntosh versão 2.0

(LANDER *et al.* 1987), que consiste em utilizar a estatística de verossimilhança convertida para o logaritmo na base 10, indicando que a ligação entre locos é 1.000 (10^3) vezes mais verossímil que a hipótese de segregação independente. Para a determinação da posição dos locos nos grupos de ligação utilizou-se o programa MAPMAKER para MacIntosh versão 2.0 (LANDER *et al.* 1987). A distribuição dos locos ao longo dos 12 cromossomos de arroz foi confirmada através da sequência dos marcadores do mapa físico do genoma de arroz, com base no banco de dados disponibilizado pelo portal Gramene (<http://www.gramene.org/>) (JAISWAL, *et al.*, 2006). A frequência de recombinação máxima empregada foi 0,35 ($r_0 = 0,35$). As frequências de recombinação foram convertidas em distâncias de mapa utilizando-se a função de mapeamento de KOSAMBI (1944), que leva em consideração a interferência (I) na recombinação quando é feita análise de três pontos. As distâncias do mapeamento foram expressas em cM (centiMorgan = 0,01 Morgan), que equivale à distância de mapa entre dois locos em que se espera que ocorra uma permuta por gameta por geração (WEIR, 1996). Os grupos de ligação detectados foram nomeados de acordo com os cromossomos do genoma do arroz, a partir da sua co-localização com o mapa físico disponível para a espécie (<http://www.gramene.org/>).

3.2.6 Avaliação fenotípica da população RIL Chorinho x Puteca para tolerância à seca em condições de campo

A população de 187 RILs Chorinho x Puteca foi avaliada a campo em maio de 2007 no Campus da Universidade Federal do Tocantins, em Gurupi-TO (Latitude 11,7458° Sul; Longitude 49,0497° Oeste e altitude de 287 m). Nos meses de maio a outubro ocorre estiagem no local do experimento, favorecendo o estabelecimento dos ensaios de tolerância à seca sob irrigação controlada.

Dois tratamentos hídricos foram aplicados à população RIL, seguindo um delineamento experimental de parcelas subdivididas, com três repetições. A densidade de semeadura foi de 70-80 sementes por metro e uso de adubação de cobertura com nitrogênio na fase de diferenciação floral e controle de erva daninha em pré-emergência. O experimento foi submetido a condições favoráveis de umidade no solo (-0,025 MPa a

15 cm de profundidade) até o estabelecimento da cultura aos 30 dias após a emergência, quando foi iniciado o tratamento de estresse hídrico (Tratamento 1). O manejo da irrigação foi feito com o uso de um sistema auto-propelido de barras horizontais de 40 cm de largura, com elevador mecânico para regulagem da distância entre os bicos de aspersão do sistema e o topo da planta (IrrigaBrasil, carretel enrolador modelo 75\GB). Foram utilizados 26 bicos *spray* de 16mm, modelo Senninger, com reguladores de vazão de 41,2 m³\h. O tratamento de estresse de seca (Tratamento 1) recebeu metade da lâmina de água aplicada no tratamento controle (Tratamento 2), onde a água foi aplicada até a saturação do solo. A irrigação foi controlada com tensiômetros, com reposição de irrigação de 38 mm aplicados quando o potencial de água no solo atingia -0,025 MPa a 15 cm de profundidade.

A avaliação de tolerância à seca foi baseada na análise de parâmetros de desenvolvimento radicular relativo, usando a mensurações feitas em plantas submetidas a estresse hídrico e plantas na condição controle. As amostras radiculares foram coletadas no período de florescimento de cada linhagem no campo. Para isto, utilizou-se um trado, capaz de coletar amostras de raiz no perfil de solo de 20-40 cm e de 40-60 cm de profundidade. Foram coletadas duas amostras de diferentes plantas em cada parcela experimental. As amostras coletadas foram pré-lavadas em água corrente no campo com o auxílio de peneiras para eliminação de solo e debris. Em seguida as amostras foram embaladas em sacos plásticos e congeladas para análise posterior no laboratório.

A avaliação de desenvolvimento radicular prosseguiu no laboratório onde as amostras de raízes foram descongeladas, lavadas novamente em água corrente e submetidas a criteriosa eliminação de resíduos e debris remanescentes com o auxílio de lupa e pinça. Em seguida, as raízes foram coradas com anilina preta para aumentar o contraste no sistema de escaneamento de imagens. Por fim, foram mergulhadas em bandeja de acrílico com água para a digitalização das imagens utilizando um *scanner Epson Perfection-4990PHOTO*, com parâmetros de 150 dpi e 24 bit color em extensão “.tif”, em tamanho real. As imagens foram utilizadas para estimar cinco parâmetros relativos, através da razão entre o valor da medida tomada no tratamento sob estresse de seca (Tratamento 1) e o valor da medida tomada no tratamento controle (Tratamento 2),

segundo a expressão: Valor Estimado=((Medida Controle – Medida sob Estresse Hídrico)/Medida Controle)*100. Os seguintes parâmetros foram computados:

- (k) Comprimento de Raiz - Comp (cm):
- (l) Área Projetada de Raiz - ArPr (cm²). A área projetada de raiz é a área ocupada pela raiz na imagem escaneada (bidimensional), referente à quantidade de pixels da raiz em relação ao *background*.
- (m) Área Superficial de Raiz - ArSu (cm²). A área superficial de raiz é a área real ocupada pela raiz (tridimensional), em contato com o solo.
- (n) Diâmetro Médio de Raiz - DiaM (mm);
- (o) Volume de Raiz - Vol (cm³);

As estimativas acima foram obtidas com base nos algoritmos empregados pelo programa WinRHIZO (2008a), que opera na plataforma Windows e utiliza o método conhecido como “esqueletonização” (referente ao esqueleto do objeto medido) para estimar parâmetros radiculares (HIMMELBAUER et al., 2004). O programa opera com 2, 256 ou 65.536 níveis de imagens em cinza (1, 8 ou 16 bits/pixel) ou milhões de cores (24 bits/pixel) na forma de arquivo TIFF, que são convertidas em imagens binárias. Estas imagens são usadas para conversão de pixels em medidas, separando o padrão de “background”, ajustado pelo algoritmo do programa, das tonalidades referentes ao objeto mensurado (raiz). A distinção de tonalidades permite ainda o cômputo de áreas sobrepostas. Os parâmetros utilizados no programa foi o de tons de cinza pelo método *Intrinsic* que é um ajuste automático do programa conforme o tipo de *scanner* utilizado e o valor de bpi utilizado no momento da digitalização da imagem em *background* branco.

Os valores fenotípicos de cada característica sob condição de estresse e controle (Comprimento, Área Projetada, Área Superficial, Diâmetro Médio e Volume) foram também usados para estimar o Índice de Suscetibilidade à Seca (ISS), que utiliza equação que relativiza médias dos parâmetros levando em consideração a diferença entre as linhagens em condições de estresse e controle substituindo a característica Produtividade, originamente utilizada por Fisher and Maurer (1978):

$$ISS = \frac{Y_w - Y_d}{Y_w + Y_d}$$

$$Y_w \times D$$

$$D = 1 - (X_d/X_w)$$

Onde: D= severidade da deficiência hídrica

ISS= Índice de Suscetibilidade à Seca

X_d= Valor médio dos genótipos sob deficiência hídrica (Tratamento 1)

X_w= Valor médio dos genótipos sob boas condições hídricas (Tratamento 2 - controle)

Y_d= Valor individual dos genótipos sob deficiência hídrica (Tratamento 1)

Y_w= Valor individual dos genótipos sob boas condições hídricas (Tratamento 2 - controle)

Estas estimativas foram usadas para avaliar o potencial emprego das características avaliadas (Comprimento, Área Projetada, Área Superficial, Diâmetro Médio e Volume) no cômputo do Índice de Suscetibilidade à Seca e avaliar o seu potencial emprego na identificação de regiões do genoma associadas ao controle de tolerância à seca.

3.2.7 Análise estatística dos dados fenotípicos de tolerância à seca coletados no campo

Os resíduos da ANOVA do experimento de tolerância à seca conduzido no campo foram plotados em planilha eletrônica excel para verificação de dados espúrios. Os valores filtrados foram analisados com o programa IRRISTAT for Windows V. 5.0 (IRRI, 1998-2005 - Philippines) para o cálculo dos valores médios de cada variável analisada, utilizando as linhagens como efeito aleatório. Os valores médios das variáveis sob condição de estresse de seca a campo foram estimados pelo programa IRRISTAT e, posteriormente, utilizados nos estudos visando a detecção de QTLs de tolerância à seca.

As análises de variância (ANOVA) dos dados dos experimentos de campo foram realizadas com a utilização do Programa SAS (1999-2000; SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.) pelo método linear (GLM). As análises de correlação entre as características foram realizadas através do programa Genes (CRUZ, 2004).

Foram realizadas ainda estimativas descritivas e análises de variância das características fenotípicas com o programa GENES (CRUZ, 2006). Foram estimadas as médias, variâncias, desvios-padrão, coeficientes de variação, máximo e mínimo da linhagem de cada característica analisada. Cada característica foi tratada de forma independente na análise de variância. Também foram obtidas as estimativas de coeficiente de correlações simples de Pearson. A normalidade das distribuições fenotípicas foram testadas pelas medidas de simetria e curtose, com base nos valores médios das características.

3.2.8 Mapeamento de QTLs de tolerância à seca

O programa MAPMAKER versão 3.0b para PC foi utilizado para a construção do mapa genético e geração do arquivo de entrada para análise de QTL no programa WinQTLCart (v.2.5- 2001\2007), utilizado na localização dos QTLs de tolerância ao frio no campo e em condições controladas. Os dados fenotípicos coletados a campo foram inicialmente considerados para a detecção de associação com marcadores moleculares através da análise de Marca Simples pelo método de regressão linear simples, utilizando o programa WinQTLCartographer (WANG et al., 2005). Em seguida, análises de Mapeamento de Intervalo Composto (JANSEN, 1993; ZENG, 1993) foram realizadas com o programa WinQTLCartographer. Para determinar a significância estatística na detecção de QTLs foi estimado o valor de LOD mínimo de cada característica analisada através de testes de permutação (1.000 permutações; nível de significância de 0,05) (CHURCHILL & DOERGE, 1994; DOERGE & CHURCHILL, 1996). Os parâmetros de análise de Mapeamento de Intervalo Composto foram os referentes ao Modelo 6 no programa (*forward regression method*, três, cinco, oito e dez marcadores controle, janela de 10 cM).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A incidência de estiagens e veranicos, especialmente no período de florescimento e enchimento de grãos, causa perdas significativas de produtividade. O presente trabalho teve por objetivo mapear regiões do genoma de arroz associadas ao controle de tolerância à seca com base em dados de desenvolvimento radicular em duas profundidades de solo, obtidos em condições de estresse hídrico no campo.

3.3.1 Genotipagem da população RIL Chorinho x Puteca e construção de uma mapa genético

Quatrocentos e quarenta e um locos microssatélites foram testados para identificação de polimorfismo entre os parentais das linhagens RILs. Deste total, apenas 83 (19%) apresentaram polimorfismo e boa amplificação nas linhagens e cultivares parentais (PESSOA FILHO, 2008). Na construção do mapa de ligação baseado na população RIL Chorinho x Puteca foram utilizadas 160 linhagens puras recombinantes com base em um valor mínimo de LOD 3,0 e fração máxima de recombinação de 0,35. Um total de 83 locos de marcadores microssatélites foi agrupado em 12 grupos de ligação que correspondem a 9 cromossomos da espécie. Os cromossomos 6 e 10 não apresentaram nenhum marcador polimórfico no cruzamento Chorinho x Puteca, e não houve evidência de ligação entre os poucos marcadores polimórficos situados no cromossomo 12, embora o conjunto inicial de marcadores incluísse centenas de marcadores distribuídos por todo o genoma (PESSOA FILHO, 2008). Os cromossomos 1, 4 e 8 foram divididos em dois grupos de ligação. O comprimento total do mapa construído foi 897,5 cM, com uma distância média entre marcadores de 12,3 cM (Figura 42).

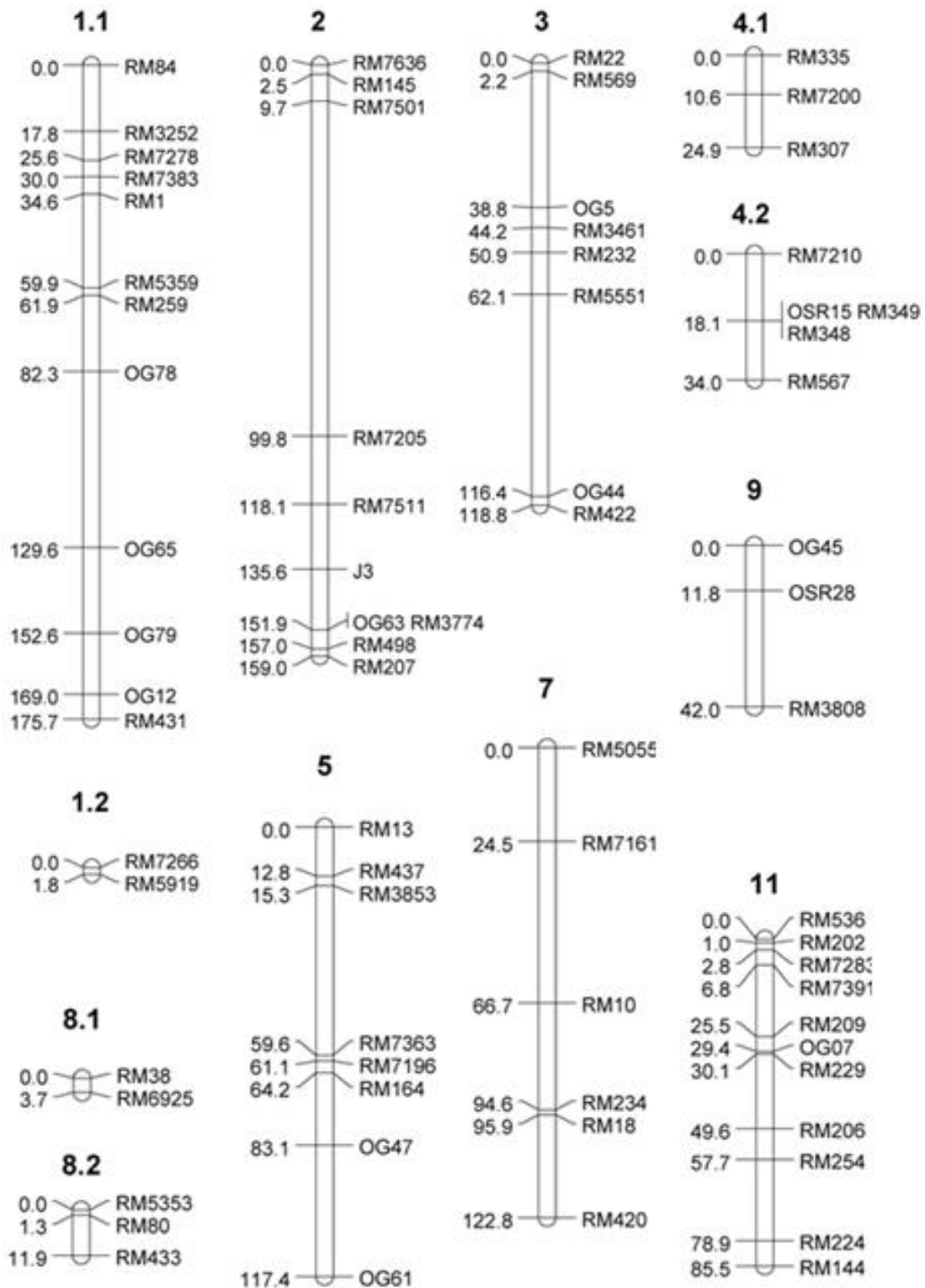


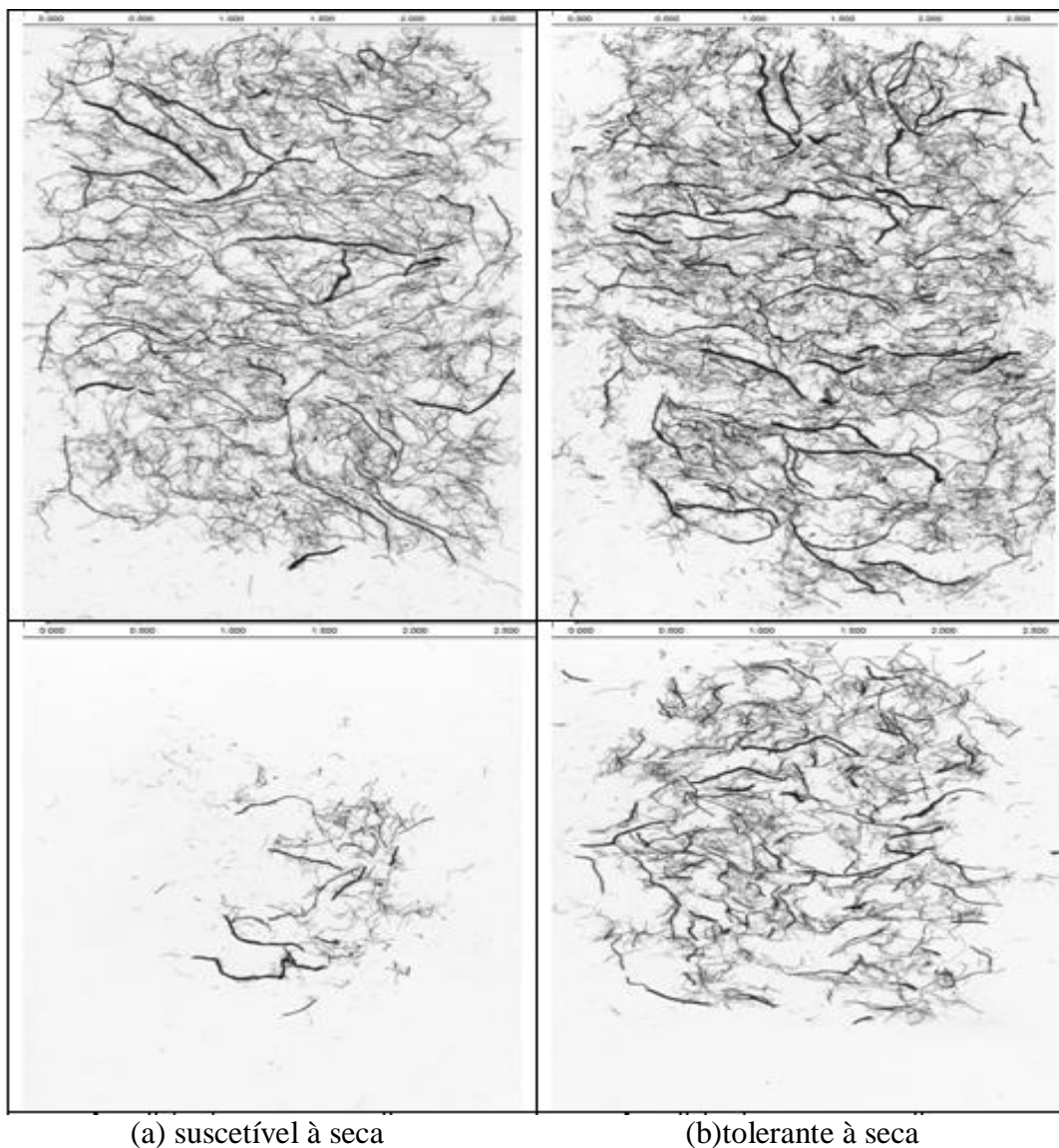
Figura 42 - Mapa genético de *Oryza sativa* baseado na população RIL Chorinho x Puteca (Pessoa Filho, 2008). O mapa é composto de 83 marcadores microssatélites. Em cada representação cromossômica, a distância de mapa é expressa em cM à esquerda, com os locos de marcadores microssatélites descritos à direita. O comprimento total do mapa é de 897,5 cM.

Poucos são os mapas genéticos de arroz voltados para o mapeamento de QTLs de tolerância a seca baseados em cruzamentos entre cultivares adaptados ao modo de produção de sequeiro (PESSOA FILHO, 2008). A vasta maioria dos estudos desenvolvidos até o momento é baseada em cruzamentos *indica x japonica*. Assim, os QTLs de tolerância à seca detectados em tais cruzamentos podem representar na população de arroz de sequeiro alelos já fixados nestas populações, potencialmente de pouco impacto nos programas de melhoramento genético.

3.3.2 Mapeamento genético de regiões genômicas associadas ao controle de tolerância à seca com base em dados fenotípicos coletados no campo

3.3.2.1 Análise fenotípica de tolerância à seca no campo

As mensurações de cada uma das características radiculares (Comprimento, Área Projetada, Área Superficial, Diâmetro Médio e Volume) foram realizadas com o auxílio de fotografias das imagens digitalizadas e com o emprego do algoritmo do software WinRHIZO (Figura 43). Neste exemplo, observa-se o maior desenvolvimento radicular na profundidade de 40 a 60 cm de uma tolerante à seca (b) em relação à linhagem suscetível (a). Os dados das características avaliadas no experimento de tolerância à seca em condição de campo foram utilizados para as análises da variância (ANOVA).



(a) suscetível à seca

(b)tolerante à seca

Figura 43 - Imagens digitalizadas de amostras de raiz em linhagens da população RIL Chorinho x Puteca que são (a) suscetível e (b) tolerante a estresse de seca no campo. As amostras foram coletadas na profundidade 20-40 cm (superior) e 40-60 cm (inferior).

A análise de variância para as cinco características radiculares nos dois tratamentos (controle e estresse por seca) nas duas profundidades de solo foi realizada pelo modelo linear (GLM) através do programa SAS (v8). Os resíduos dos dados da Anova foram plotados pelo programa IRRISTAT para identificação de dados potencialmente espúrios (Figura 44, 45, 46, 47).

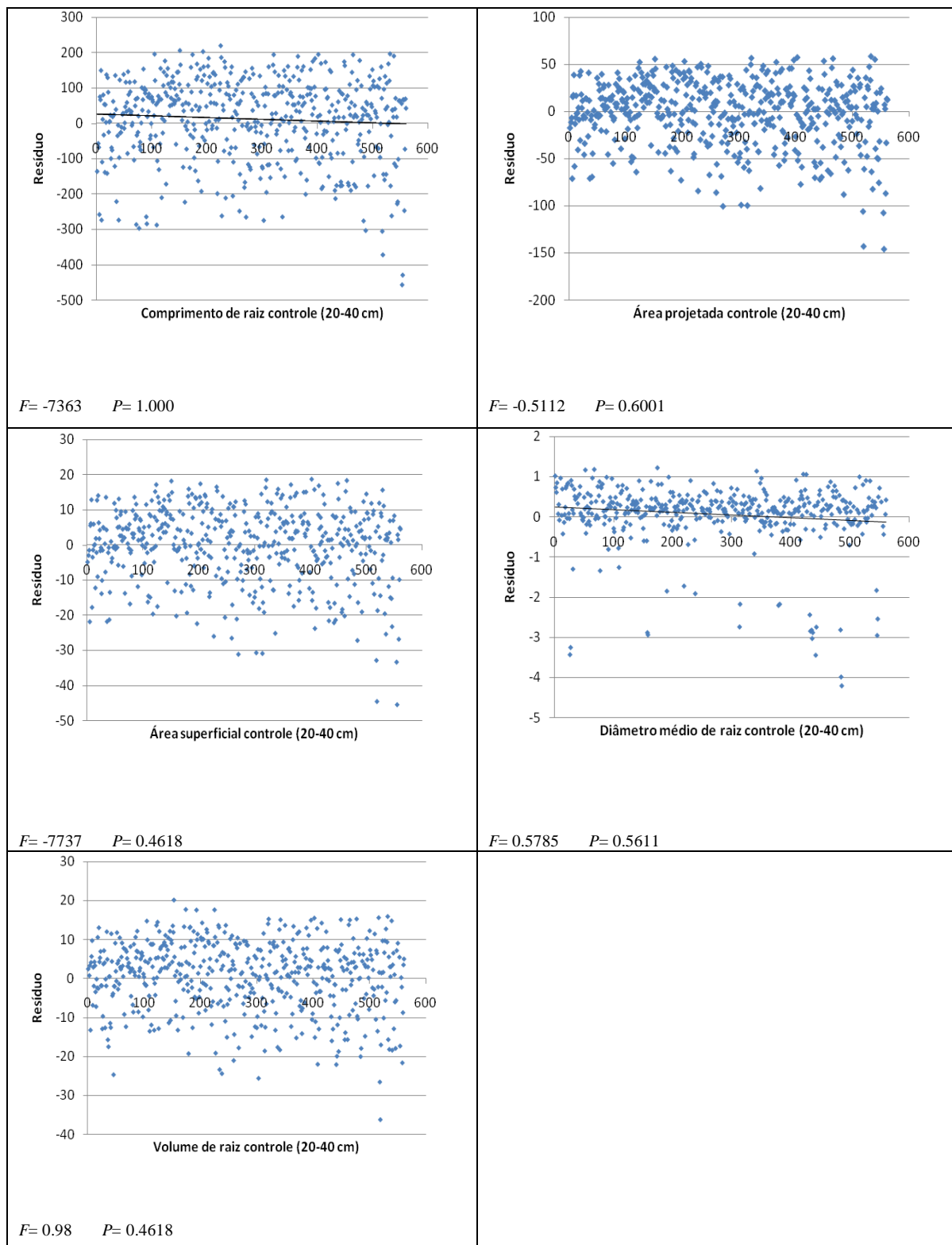


Figura 44 - Gráficos de dispersão de resíduos de cinco características radiculares sob tratamento sem estresse por seca (controle) na profundidade de 20 a 40 cm de solo. F = valor F statistic/ P = probabilidade (5%).

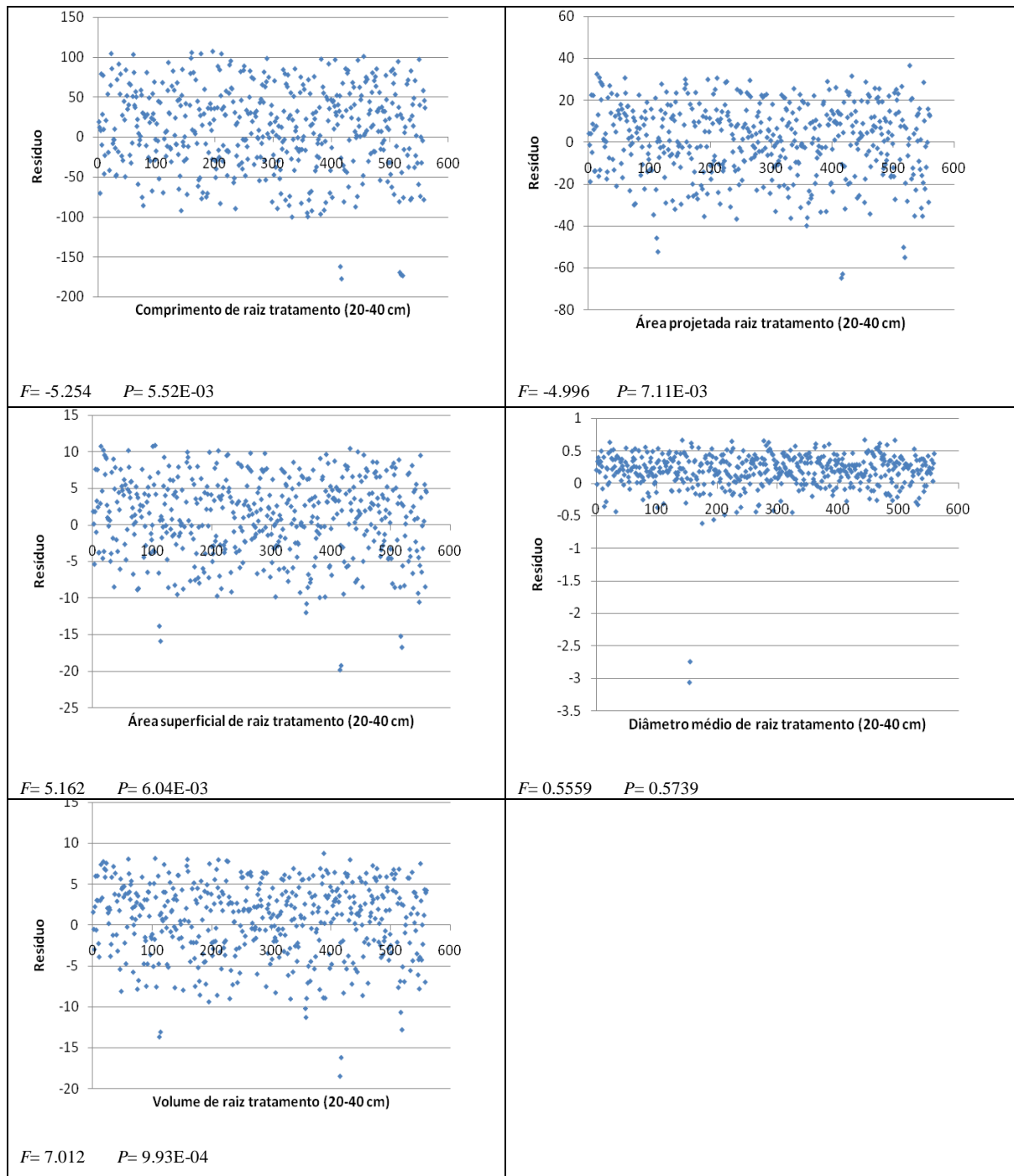


Figura 45 - Gráficos de dispersão de resíduos de cinco características radiculares sob tratamento de estresse por seca na profundidade de 20 a 40 cm de solo. F = valor F statistic/ P = probabilidade (5%).

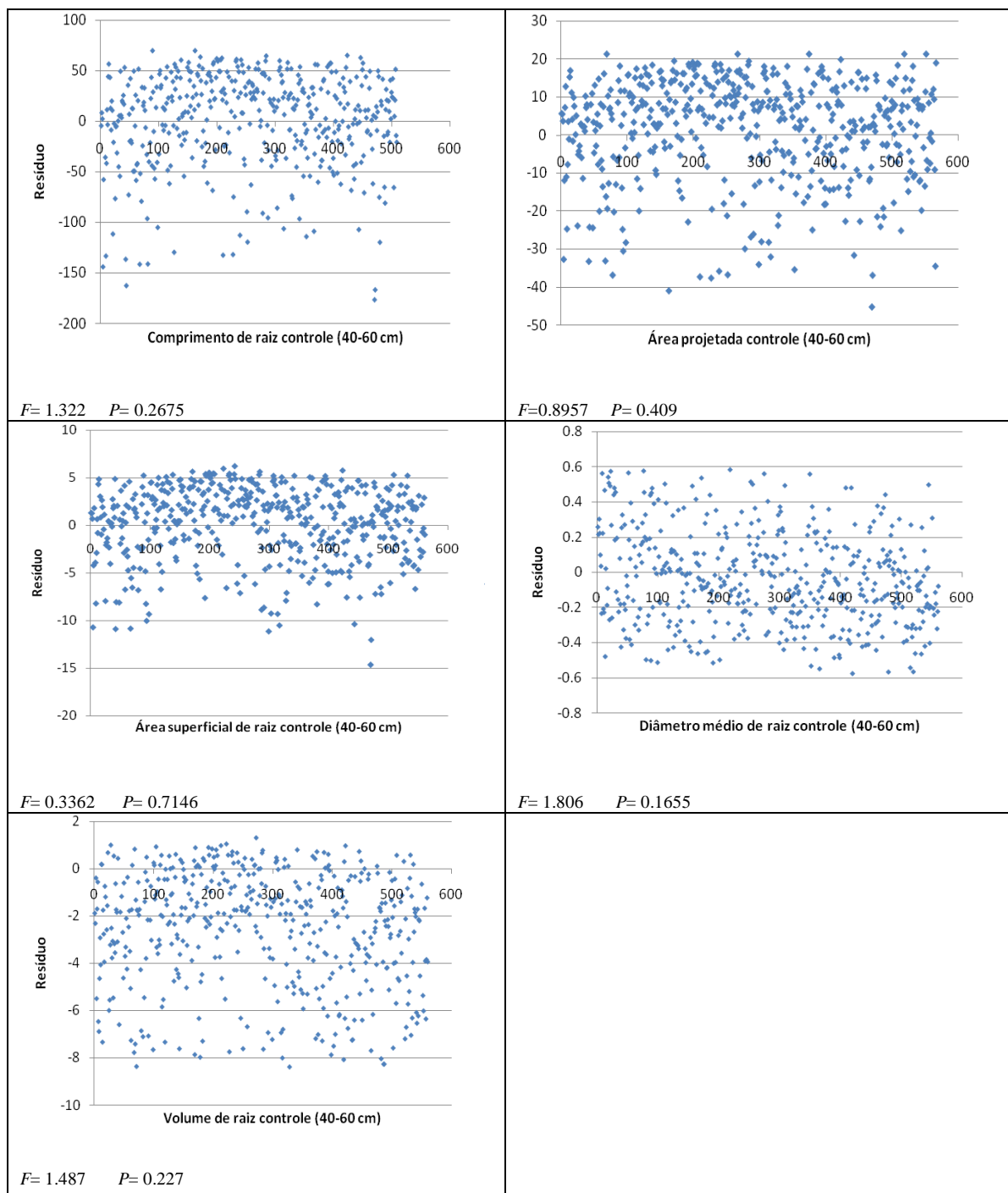


Figura 46 - Gráficos de dispersão de resíduos de cinco características radiculares sob tratamento sem estresse por seca (controle) na profundidade de 40 a 60 cm de solo. F = valor F statistic/ P = probabilidade (5%). .

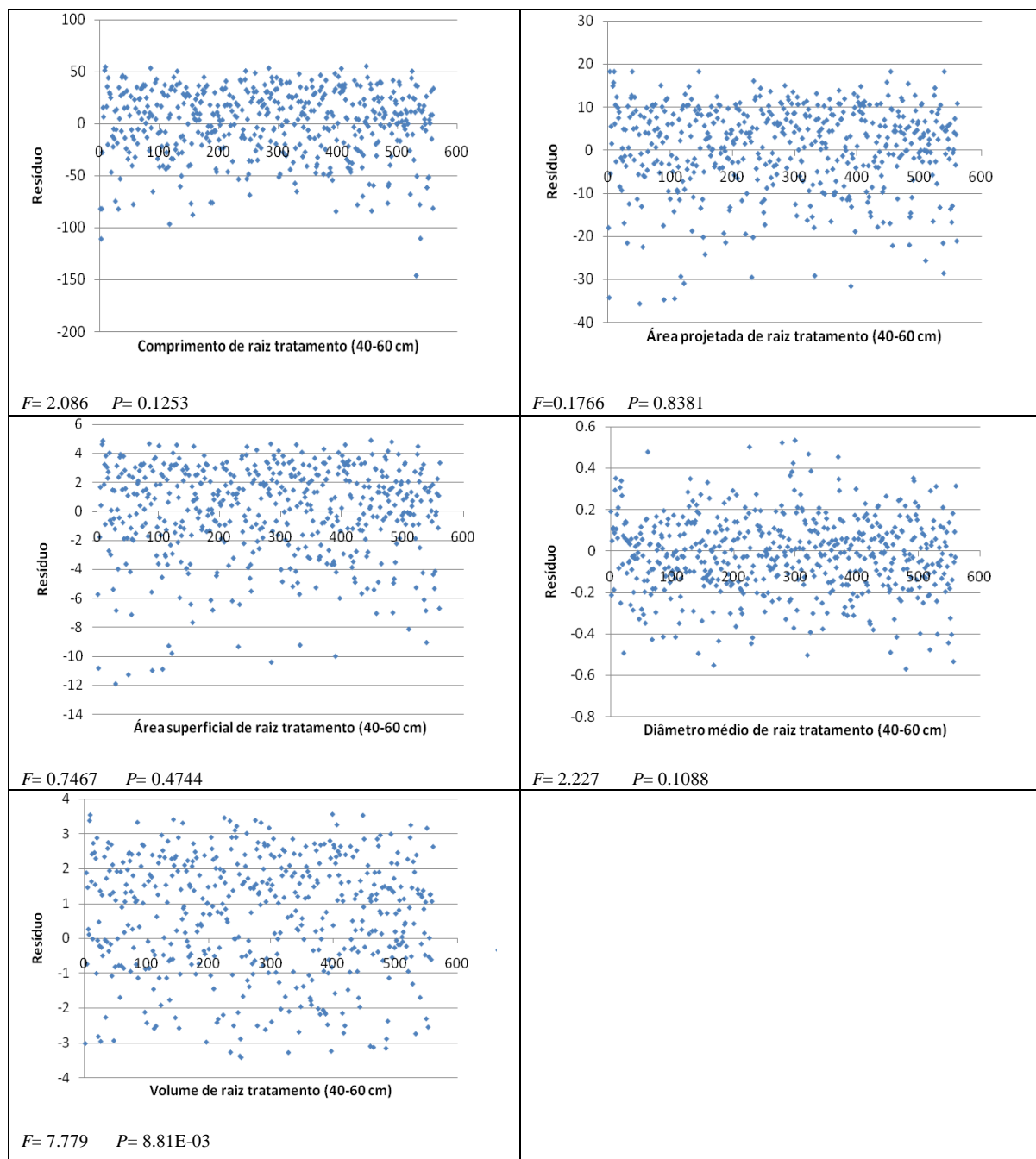


Figura 47 - Gráficos de dispersão de resíduos de cinco características radiculares sob tratamento de estresse por seca na profundidade de 20 a 40 cm de solo. F = valor F statistic/ P = probabilidade (5%).

Os resultados demonstram que, para todas as características a variação causada pela diferença entre os tratamentos hídricos foi altamente significativa. Não foi observada diferença significativa entre as linhagens para as características de Comprimento e Diâmetro médio de raiz na profundidade de 20 a 40 cm (Tabela 55). Na profundidade 40 a 60 cm, não houve diferença significativa entre as linhagens para o parâmetro de Volume de raízes (Tabela 57).

Os valores fenotípicos médios de cada característica, nas duas profundidades, para as linhagens puras recombinantes e para os parentais do cruzamento. Os valores são apresentados nas Tabelas 56 e 58. Para as cinco características avaliadas, o parental Chorinho apresentou melhor desempenho em condições de estresse hídrico do que o parental Puteca. Algumas linhagens puras recombinantes apresentaram segregação transgressiva, ou seja, linhagens que revelaram desempenho superior à média da população e aos valores observados no parental de valor mais elevado, assim como valores menores que os apresentados pelo parental de menor valor. O coeficiente de variação variou entre 9,2 e 37,5% na profundidade de 20 a 40 cm e 6,55 e 51,92% na profundidade de 40 a 60 cm. Os menores valores de coeficiente de variação foram apresentados para a característica de Diâmetro Médio de raiz, nas duas profundidades analisadas.

Tabela 55 - Análise de variância de características fenotípicas da população RIL Chorinho x Puteca em tratamentos com e sem estresse por seca na profundidade de 20 a 40 cm de solo.

Característica	Fonte variação	GL	SQ	QM	F	P
Comprimento	Repetição	2	12729,32	6364,66	0,80	0,451
	Ambiente	1	1918702,22	1918702,22	240,2	<,000
	Linhagem	188	1701332,32	9049,46	1,13	0,134
	Linhagem x ambiente	188	459678,41	7764,24	0,97	0,586
	Erro	660	5270341,43	7985,37		
Área projetada	Repetição	2	2806,93	1403,46	2,40	0,091
	Ambiente	1	214317,31	214317,31	366,89	<,000
	Linhagem	188	219635,87	1168,27	2,00	<,000
	Linhagem x ambiente	188	188282,63	1001,50	1,71	<,000
	Erro	657	383787,33	584,15		
Área superficial	Repetição	2	315,10	157,55	2,73	0,066
	Ambiente	2	24991,58	24991,58	432,79	<,000
	Linhagem	188	18838,22	100,20	1,74	<,000
	Linhagem x ambiente	188	18307,53	97,38	1,69	<,000
	Erro	650	37534,82	57,74		
Diâmetro médio	Repetição	2	1,05	0,52	0,49	0,612
	Ambiente	2	239,32	239,32	223,25	<,000
	Linhagem	188	176,24	0,93	0,87	0,867
	Linhagem x ambiente	188	175,41	0,93	0,87	0,876
	Erro	696	746,13	1,07		
Volume	Repetição	2	184,59	92,29	1,92	0,146
	Ambiente	1	196,37	17585,61	366,56	<,000
	Linhagem	188	11552,56	61,44	1,28	0,014
	Linhagem x ambiente	188	9466,33	50,35	1,05	0,336
	Erro	672	32238,95	47,97		

Tabela 56 - Valores fenotípicos médios avaliados sob condição de estresse hídrico nos parentais dos cruzamentos e linhagens puras recombinantes na profundidade de 20 a 40 cm.

Característica	Chorinho	Puteca	Linhagens			CV%
			Média	Mínimo	Máximo	
Comprimento	217,87	173,29	159,99	79,79	291,82	32,5
Área Projetada	65,44	53,30	48,33	22,56	94,32	36,1
Área superficial	20,55	16,74	14,73	8,22	29,63	36,1
Diâmetro médio	3,01	3,03	2,94	2,67	4,95	9,2
Volume	15,47	12,9	11,09	4,93	24,00	37,9

Tabela 57 - Análise de variância de características fenotípicas da população RIL Chorinho x Puteca em tratamentos com e sem estresse por seca na profundidade de 40 a 60 cm de solo

Característica	Fonte variação	GL	SQ	QM	F	P
Comprimento	Repetição	2	1990,63	995,31	0,92	0,397
	Ambiente	1	5844,62	5844,62	5,42	0,020
	Linhagem	188	458429,66	2438,45	2,26	<,000
	Linhagem x ambiente	188	481805,59	2590,35	2,40	<,000
	Erro	612	659884,71	1078,24		
Área projetada	Repetição	2	150,76	75,38	0,72	0,489
	Ambiente	1	1040,72	1040,72	9,88	0,000
	Linhagem	188	32134,36	170,92	1,62	<,000
	Linhagem x ambiente	188	38343,79	203,95	1,94	<,000
	Erro	623	65625,04	105,33		
Área superficial	Repetição	2	16,75	8,37	0,86	0,489
	Ambiente	2	42,67	42,67	4,39	0,036
	Linhagem	188	3028,04	16,10	1,66	<,000
	Linhagem x ambiente	188	3600,46	19,15	1,97	<,000
	Erro	631	6131,14	9,71		
Diâmetro médio	Repetição	2	0,27	0,13	2,88	0,056
	Ambiente	2	9,15	9,15	192,74	<,000
	Linhagem	188	10,81	0,05	1,21	0,046
	Linhagem x ambiente	188	11,37	0,06	1,27	0,016
	Erro	657	31,20	0,04		

Volume	Repetição	2	1,59	0,79	0,19	0,825
	Ambiente	1	63,11	63,11	19,17	<,000
	Linhagem	188	861,19	4,58	1,10	0,200
	Linhagem x ambiente	188	904,94	4,83	1,16	0,094
	Erro	598	2487,88	0,13		

Tabela 58 - Valores fenotípicos médios avaliados sob condição de estresse por seca nos parentais dos cruzamentos e linhagens puras recombinantes na profundidade de 40 a 60 cm.

Característica	Chorinho	Puteca	Linhagens			CV%
			Média	Mínimo	Máximo	
Comprimento	92,41	61,97	65,09	14,14	161,83	44,7
Área Projetada	25,15	16,73	17,87	3,01	43,50	47,92
Área superficial	7,90	5,18	5,65	0,97	13,71	51,92
Diâmetro médio	2,72	2,88	2,67	2,28	2,98	6,55
Volume	5,38	3,49	3,36	1,20	7,23	48,0

A distribuição de freqüências das classes fenotípicas no tratamento controle (Tratamento 1) e profundidade de 20 a 40 cm seguiram uma distribuição normal (Figura 48). No entanto, os valores de simetria e curtose, que demonstram a distribuição assimétrica dos dados e o grau de achatamento das curvas, não foram significativos apenas para Comprimento e Volume de raiz (Tabela 59). As características sob condição de estresse na profundidade de 20 a 40 cm tiveram tendência para curva normal (Figura 49), porém a significância para simetria e curtose foi elevada para todas as características estudadas (Tabela 60).

Tabela 59 - Valores de simetria e curtose da distribuição de características fenotípicas de raízes de linhagens puras recombinantes (RIL-F₇) na condição controle (sem estresse hídrico) avaliadas na profundidade de 20 a 40 cm.

Simetria			Curtose		
	Valor <i>t</i>	Prob <i>p</i>		Valor <i>t</i>	Prob <i>p</i>
Comprimento	3,00	0,286	Comprimento	2,86	0,431
Área projetada	5,59	0,000	Área projetada	7,07	0,000
Área superficial	4,39	0,002	Área superficial	4,22	0,005
Diâmetro médio	19,15	0,000	Diâmetro médio	39,19	0,000
Volume	3,42	0,079	Volume	2,23	2,437

Tabela 60 - Valores de simetria e curtose da distribuição de características fenotípicas de raízes de linhagens puras recombinantes (RIL-F₇) sob tratamento de estresse hídrico avaliadas na profundidade de 20 a 40 cm.

Simetria			Curtose		
	Valor <i>t</i>	Prob <i>p</i>		Valor <i>t</i>	Prob <i>p</i>
Comprimento	5,35	0,000	Comprimento	0,03	0,000
Área projetada	4,76	0,000	Área projetada	5,58	0,000
Área superficial	5,76	0,000	Área superficial	8,32	0,000
Diâmetro médio	35,00	0,000	Diâmetro médio	178,60	0,000
Volume	4,50	0,001	Volume	5,09	0,000

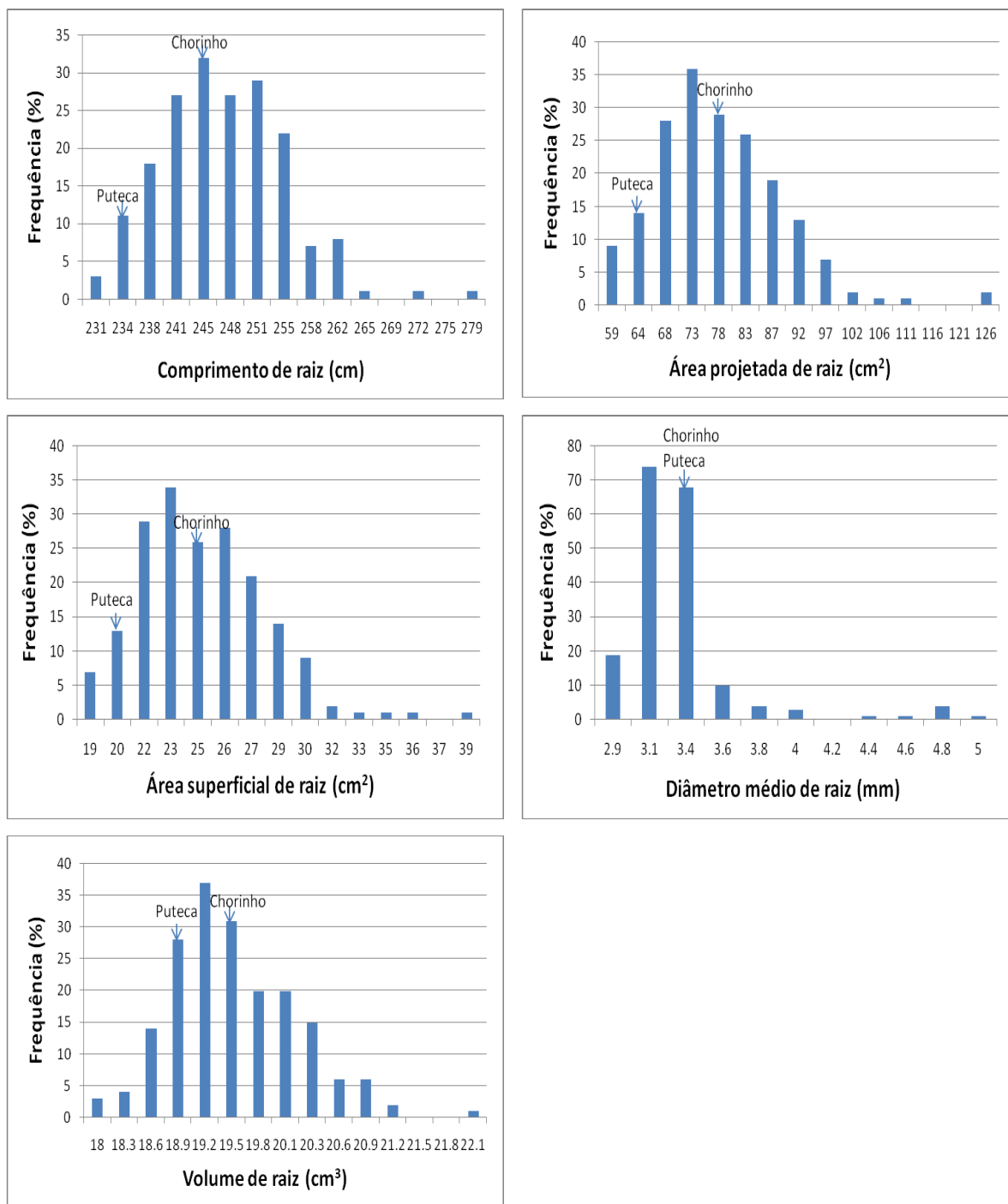


Figura 48 - Distribuição das características fenotípicas de linhagens puras recombinantes (RIL-F7) na condição controle (sem estresse) na profundidade de solo de 20 a 40 cm. Chorinho = parental tolerante à seca/ Puteca = parental suscetível à seca.

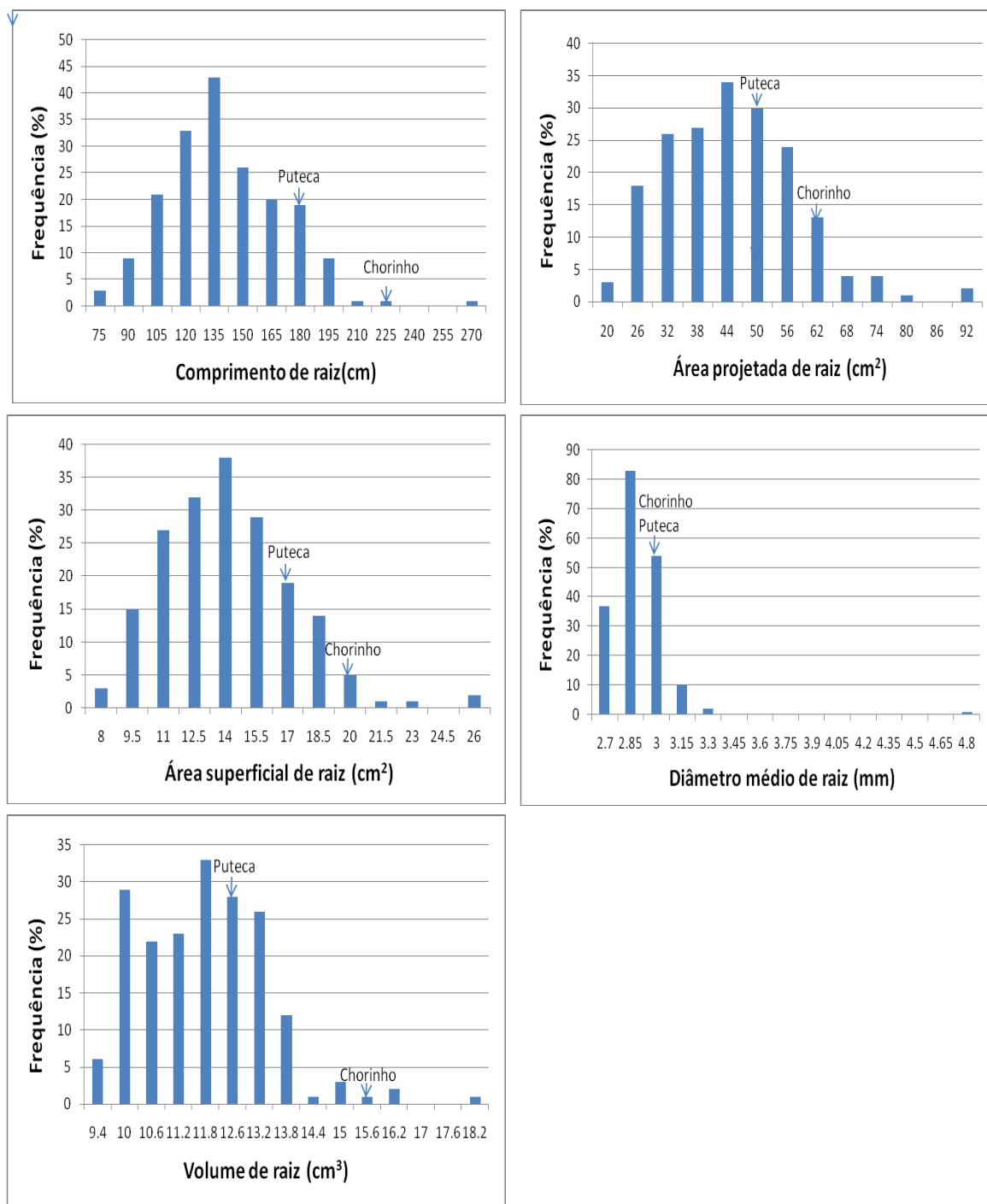


Figura 49 - Distribuição das características fenotípicas de linhagens puras recombinantes (RIL-F₇) na condição de estresse hídrico na profundidade de solo de 20 a 40 cm. Chorinho = parental tolerante à seca/ Puteca = parental suscetível à seca.

As distribuições das frequências das classes fenotípicas das linhagens no tratamento controle para a profundidade de 40 a 60 cm apresentam aparente distribuição normal (Figura 50). A análise de simetria foi significativa para Comprimento de raiz. Os valores de curtose também foram significativos para Comprimento e Volume de raiz (Tabela 61). A distribuição das frequências das características sob condição de estresse na profundidade de 40 a 60 cm também tiveram tendência para curva normal (Figura 51), porém os testes de simetria só não foram significativos para Diâmetro Médio de raiz. As estimativas de curtose foram significativas apenas para Volume de raiz (Tabela 62). Observa-se que na condição controle e profundidade de 40 a 60 cm, o parental Puteca apresentou melhor desempenho de desenvolvimento radicular em relação ao parental Chorinho em todas as características, com exceção de Comprimento de raiz (Figura 50). No entanto, sob condição de estresse, o parental Chorinho apresenta valores superiores ao parental Puteca para todas as características analisadas, com exceção de Diâmetro médio (Figura 51). Estes dados parecem indicar a superioridade de desenvolvimento radicular do parental Chorinho em relação a Puteca na condição de estresse hídrico no campo.

Tabela 61 - Valores de simetria e curtose da distribuição de características fenotípicas de raízes de linhagens puras recombinantes (RIL-F₇) na condição controle (sem estresse) na profundidade de 40 a 60 cm.

Simetria			Curtose		
	Valor <i>t</i>	Prob <i>p</i>	Valor <i>t</i>	Prob <i>p</i>	
Comprimento	6,81	0,000	Comprimento	7,32	0,000
Área projetada	2,66	0,776	Área projetada	0,14	87,841
Área superficial	2,93	0,352	Área superficial	0,58	56,587
Diâmetro médio	-2,08	3,549	Diâmetro médio	1,00	31,684
Volume	1,46	13,840	Volume	5,57	0,000

Tabela 62 - Valores de simetria e curtose da distribuição de características fenotípicas de raízes de linhagens puras recombinantes (RIL-F₇) sob tratamento de estresse de seca na profundidade de 40 a 60 cm.

Simetria			Curtose		
	Valor <i>t</i>	Prob <i>p</i>	Valor <i>t</i>	Prob <i>p</i>	
Comprimento	4,17	0,006	Comprimento	2,82	1,936
Área projetada	4,32	0,000	Área projetada	1,54	11,713
Área superficial	4,10	0,008	Área superficial	1,16	24,064
Diâmetro médio	-0,46	64,964	Diâmetro médio	0,94	65,483
Volume	3,87	0,017	Volume	3,82	0,021

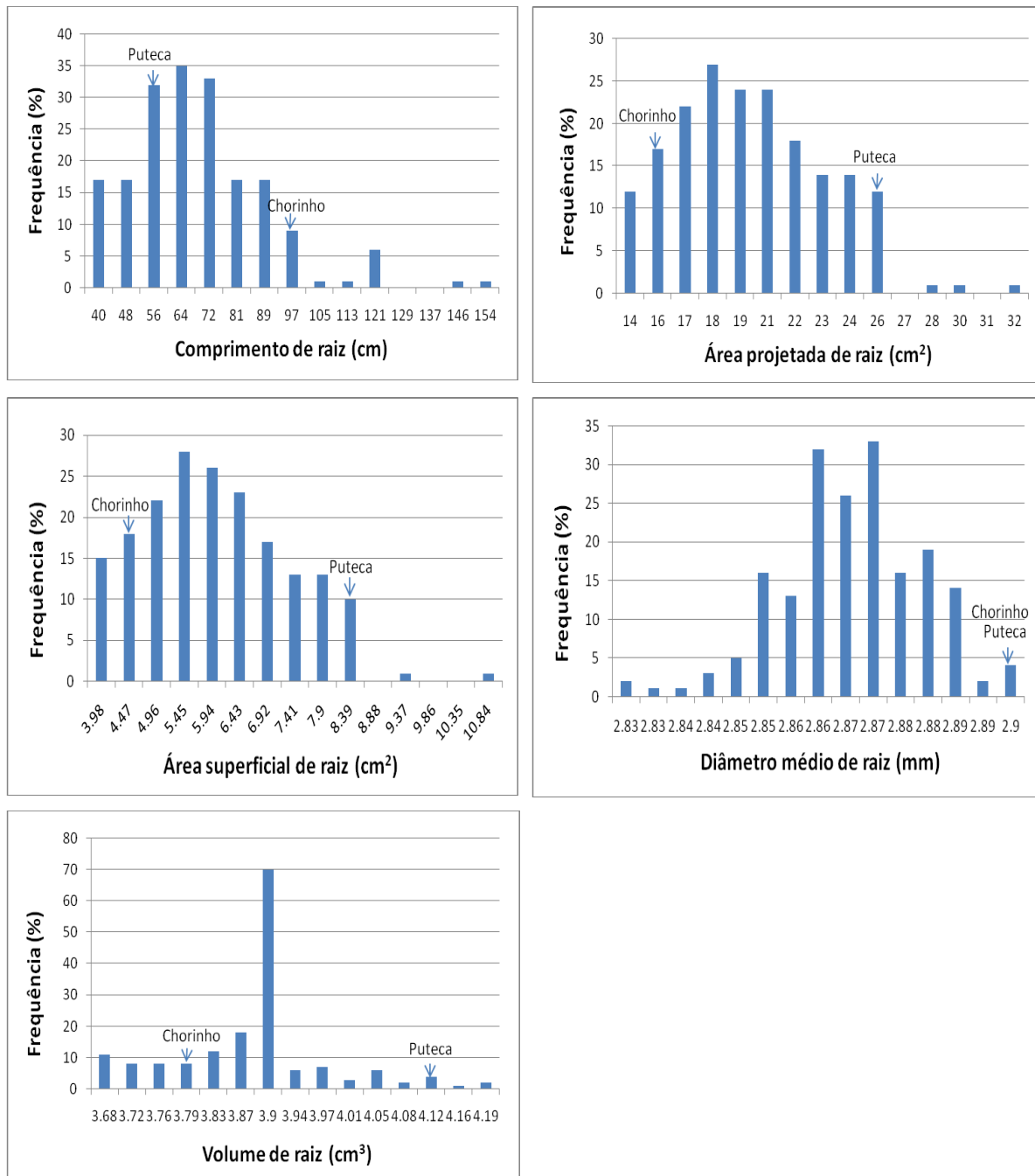


Figura 50 - Distribuição das características fenotípicas de linhagens puras recombinantes (RIL-F₇) na condição controle na profundidade de solo de 40 a 60 cm. Chorinho = parental tolerante à seca/ Puteca = parental suscetível à seca.

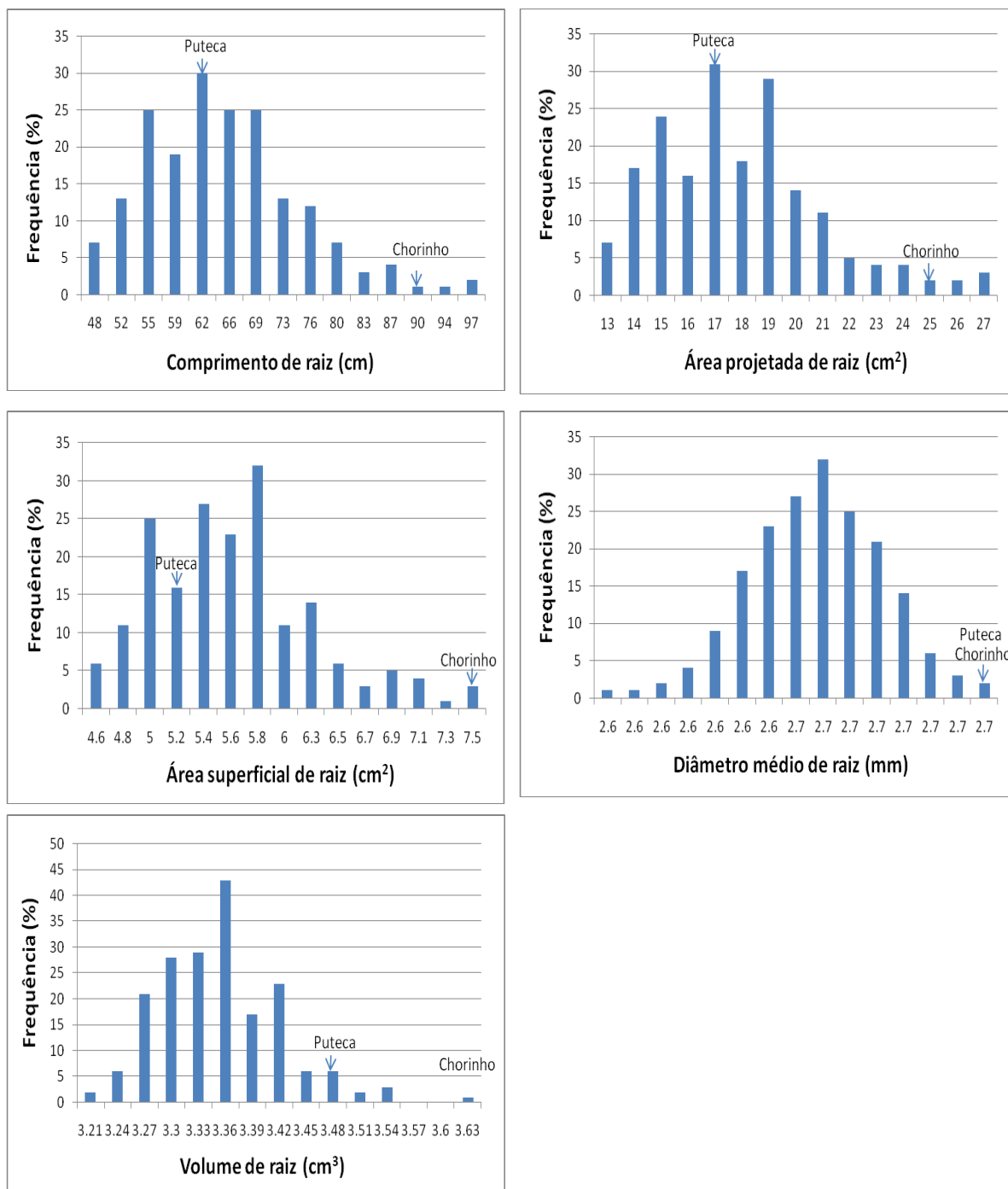


Figura 51 - Distribuição das características fenotípicas de linhagens puras recombinantes (RIL-F₇) na condição de estresse hídrico na profundidade de solo de 40 a 60 cm. Chorinho = parental tolerante à seca/ Puteca = parental suscetível à seca.

Correlações entre os características radiculares - Os valores médios obtidos de cada característica fenotípica nas condições controle e estresse hídrico foram utilizados para obtenção dos Índices de Suscetibilidade à Seca (ISS). A razão entre os valores médios das linhagens em condição de estresse e os valores médios das linhagens em condição controle demonstra o grau de severidade da condição de estresse (D). Todos os índices de suscetibilidade calculados foram utilizados nas análises de correlação juntamente com as características avaliadas nas duas profundidades de solo.

Na condição de estresse hídrico (profundidade 20-40 cm) há correlação alta e significativa entre Comprimento de raiz e as demais características, com exceção de Índice de Suscetibilidade à Seca pelo Diâmetro médio (ISSDm). Ao medir o comprimento de raiz na profundidade de 20-40 cm, aparentemente a mensuração das outras características se torna desnecessária. O mesmo acontece entre a Área Projetada (ArPr) com as demais características, com exceção ISScomp (ISScomprimento) e ISSDiam (ISSdiâmetro médio), ou entre Área Superficial (ArSu) e as demais características, com exceção de ISScomp e ISSDiam (Tabela 63). Por outro lado, o Diâmetro médio não apresentou correlação significativa com as características ISScomp, ISSArPr e ISSArSu. A característica Volume de raiz não é significativamente correlacionada com ISScomp, ISSArSu e ISSDm. Na condição de estresse hídrico (profundidade 40-60 cm), as correlações são significativas entre todas as características, com exceção de Diâmetro médio (Dm) que não apresenta correlação com nenhuma outra característica e ISSDm em relação a Comprimento, ISScomp e ISSArSu (Tabela 63).

Tabela 63 - Coeficientes de correlação de Pearson (R^2) entre os 10 parâmetros avaliados sob tratamento de estresse em diferentes profundidades de solo. De 20 a 40 cm (diagonal superior) e de 40 a 60 cm (diagonal inferior)

	Comp	ISScomp	ArPr	ISSArPr	ArSu	ISSArSu	DiaM	ISSDiaM	Vol	ISSvol
Comp		-0,165*	0,889**	-0,283**	0,913**	-0,211**	0,239**	-0,041	0,816**	-
ISScomp	-		-0,105	0,862**	-0,129	0,883**	-0,504	0,252**	-0,077	0,773**
ArPr	0,516**	-0,456**		-0,308**	0,931**	-0,194*	0,288**	-0,022	0,896**	0,368**
ISSArPr	0,891**	-0,844**	-0,771**		0,306**	0,965**	-0,094	0,311**	-	0,517**
ArSu	0,689**	-0,469**	0,953**	-0,750**		-0,227**	0,291**	0,037	0,231**	-
ISSArSu	0,872**	-0,888**	-0,507**	-0,893**	-		-0,414	-0,306**	-0,131	0,831**
DiaM	0,479**	-0,036	-0,083	-0,054	0,074	-0,000		-0,121**	0,322**	-
ISSDiaM	0,102	-0,078	-0,252**	-0,187*	-	0,105	0,402**		-0,033	0,282**
Vol	-0,128	0,274**	-0,706**	-0,463**	0,241**	-0,307**	0,069	-0,237**		-
ISSvol	0,766**	-0,567**	-0,543**	-0,628**	0,692**	-0,623**	0,034	-0,223**	-	0,929**
	0,566**				0,551**				0,703**	

**, * : Significativo a 1 e 5% de probabilidade, pelo teste t.

Considerando as características medidas na profundidade de 20-40 cm (Tabela 63), observa-se que: (1) a característica Comprimento de raiz está significativamente correlacionada com todas as características medidas na profundidade de 40-60 cm, com exceção de DiaM, ISSDiaM; (2) a característica Área Projetada de raiz está significativamente correlacionada com todas as características medidas na profundidade de 40-60 cm, com exceção de DiaM e ISSDiaM; (3) a característica Área Superficial de raiz está significativamente correlacionada com todas as características medidas na profundidade de 40-60 cm, com exceção de DiaM e ISSDiaM; (4) a característica Diâmetro Médio de raiz está significativamente correlacionada com todas as características medidas na profundidade de 40-60 cm, com exceção de DiaM, Vol e ISSVol; (5) a característica Volume de raiz está significativamente correlacionada com todas as características medidas na profundidade de 40-60 cm, com exceção de ISSArPr e DiaM.

A diagonal da tabela de correlação entre características medidas na profundidade de 20-40 cm e 40-60 cm (Tabela 64) apresenta valores de correlação significativos e positivos, com exceção de Diâmetro médio de raiz e ISSDiaM. Contudo, quando significativos, os valores de correlação são inferiores a 0,40%. Isto

indica que a análise de características nas duas profundidades de solo é necessária para uma apreciação adequada dos mecanismos de tolerância à seca no campo.

Tabela 64 - Coeficientes de correlação de Pearson (R^2) de 10 parâmetros avaliados entre as diferentes profundidades de solo (20 a 40 cm e 40 a 60 cm) sob estresse hídrico no campo.

	Comp	ISScomp	ArPr	ISSArPr	ArSu	ISSArSu	DiaM	ISSDiaM	Vol	ISSvol
Comp	0,286**	-0,046**	0,259**	-0,103	0,267**	-0,063	0,181*	-0,021	0,216*	-0,200*
ISScomp	-0,251**	0,344**	-0,254**	0,359**	-0,238**	0,314	-0,206**	0,115	-0,238*	0,327**
ArPr	0,252**	-0,066	0,248**	-0,127	0,229**	-0,103	0,163*	-0,038	0,235**	-0,232**
ISSArPr	-0,255**	0,322**	-0,259**	0,374**	-0,022**	0,330**	-0,211**	0,157*	-0,254	0,339**
ArSu	0,285**	-0,074	0,279**	-0,155*	0,254**	-0,127	0,162*	-0,073	0,251**	-0,246**
ISSArSu	-0,211**	0,377**	-0,198*	0,409**	-0,178*	0,389**	-0,191*	0,171*	-0,205**	0,307**
DiaM	0,139	-0,152	0,135	-0,135	0,123	-0,104	0,060	0,159	0,116	-0,089
ISSDiaM	-0,035	-0,031	-0,125	0,512	-0,133	-0,064	-0,159*	0,160	-0,173*	0,195*
Vol	0,201*	-0,002	0,199*	-0,004	0,212**	-0,006	0,125	0,041	0,188*	-0,144
ISSvol	-0,212	0,153	-0,210**	0,152	0,225**	0,129	-0,182	0,026	-0,242**	0,255**

**,* : Significativo a 1 e 5% de probabilidade, pelo teste t.

As estimativas de Índice de Suscetibilidade à Seca (ISS) na profundidade de 40 a 60 cm indicam aproximadamente 34% de linhagens com valores transgressivos na condição de estresse quando comparados com os valores obtidos sob condição sem estresse para as características de Comprimento, Área Projetada e Área Superficial de raiz. A linhagem 189 exemplifica esta situação. Na profundidade de 20 a 40 cm, somente para a característica de Diâmetro médio de raiz foram observadas linhagens com valores superiores sob condição de estresse.

Não está evidente a potencial utilização dos Índices de Suscetibilidade à Seca no mapeamento de QTLs. Por esta razão, a análise de QTLs foi realizada apenas com os dados das características mensuradas nas duas profundidades (Comprimento, Área Projetadas, Área Superficial, Diâmetro Médio e Volume) (próxima Seção - ítem 3.3.3).

3.3.3 Análise de QTL de tolerância à seca na população RIL Chorinho x Puteca baseada em características radiculares avaliadas sob condição de estresse hídrico na profundidade de 20 a 40 cm do solo

Comprimento de raiz

A análise de Marca Simples identificou cinco marcadores associados à característica de comprimento de raiz sob estresse, pertencentes aos grupos de ligação 1, 2 e 8 (Tabela 65).

Tabela 65 - Marcadores associados à característica de Comprimento de raiz na população RIL Chorinho x Puteca sob condição de estresse por seca pela análise de Marca Simples (profundidade do solo: 20-40cm)

Marcador	Grupo de ligação	Posição (cM)	Prob (F)
OG78	1,1	82,3	0,042*
J3	2	135,6	0,003
RM207	2	159,0	0,046
RM6925	8,1	3,7	0,026*
RM5353	8,2	0,00	0,040

* 1% significância

A análise de Mapeamento de Intervalo Composto detectou três QTLs, sendo dois localizados no cromossomo 1 e um no cromossomo 2, com valores de LOD de 2,72; 3,05 e 2,64, respectivamente (Figura 52 e 53). A percentagem de variação fenotípica explicada pelos QTLs foi estimada entre 6,2 e 7,8%. O efeito da substituição do alelo de Puteca por Chorinho no QTL detectado no intervalo RM1-RM259 tem efeito aditivo negativo no Comprimento de raiz (Tabela 66). Nos outros dois intervalos, este efeito é positivo.

Tabela 66 - QTLs detectados para a característica de Comprimento de raiz na população RIL Chorinho x Puteca submetida a estresse de seca na profundidade de 20 a 40 cm pelo modelo de Mapeamento de Intervalo Composto.

Intervalo	Grupo de ligação	Posição cM	LOD	Efeito aditivo	R ² (%)
RM1-RM259	1.1	60,9	2,72	-0,323	6,2
OG78-OG65	1.1	82,3	3,05	0,321	7,0
RM7511-OG63	2	134,1	2,64	0,28	7,8

Efeito aditivo refere-se à substituição de um alelo do parental Puteca por um alelo do parental Chorinho

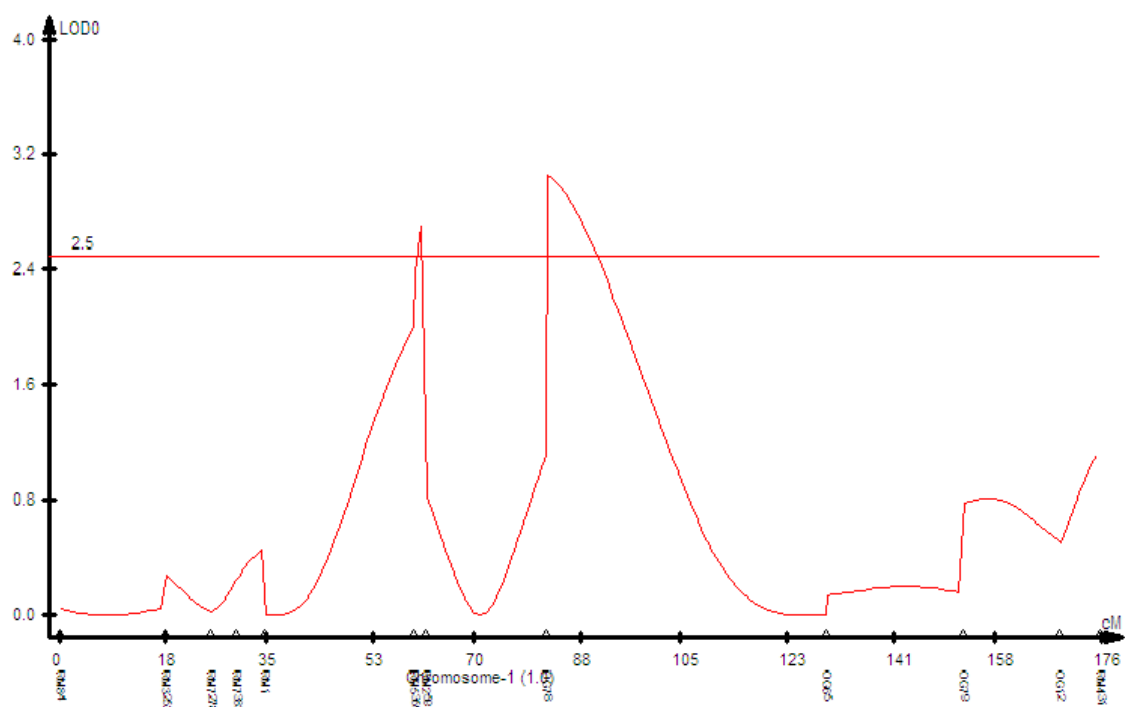


Figura 52 - QTL associado a Comprimento de raiz na população RIL Chorinho x Puteca submetida a estresse por seca no cromossomo 1.1 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto (profundidade do solo: 20-40 cm). Valor de crítico de LOD de 2,5, representado pela linha horizontal.

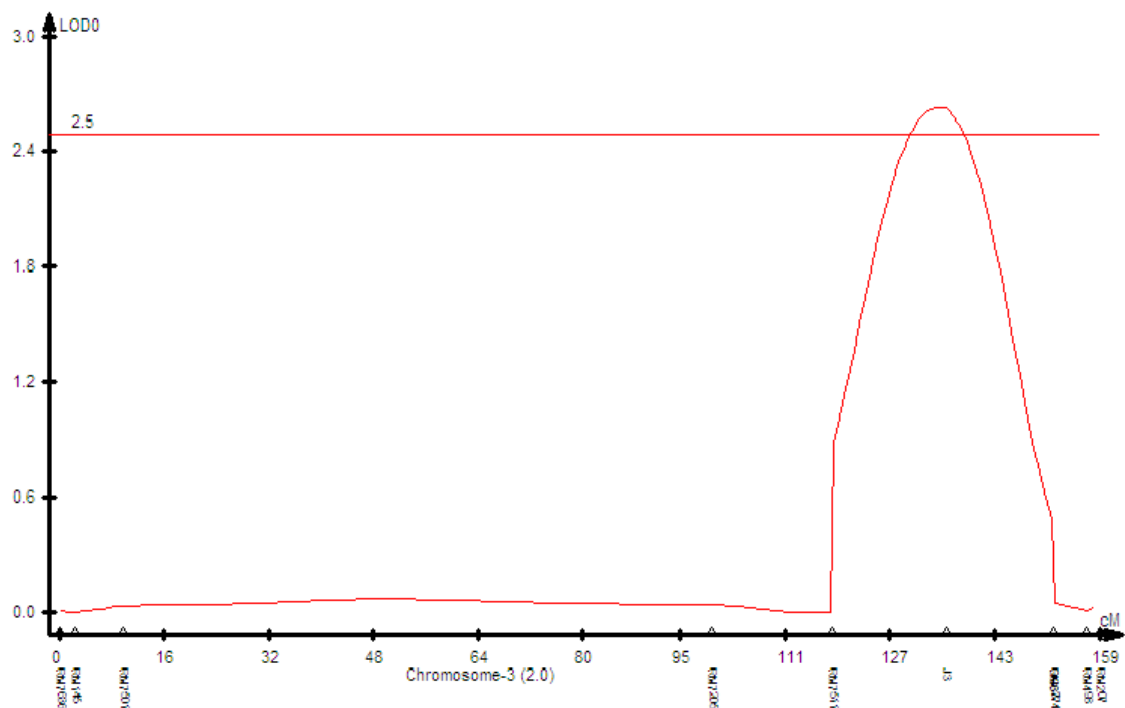


Figura 53 - QTL associado a Comprimento de raiz na população RIL Chorinho x Puteca submetida a estresse por seca no cromossomo 2 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto (profundidade do solo: 20-40 cm). Valor de crítico de LOD de 2,5, representado pela linha horizontal.

Área Projetada de raiz

Seis marcadores foram associados de forma significativa com a característica Área Projetada de raiz sob condição de estresse de seca pela análise de Marca Simples. Os marcadores estão distribuídos nos cromossomos 1, 2, 3 e 8 (Tabela 67).

Tabela 67 - Marcadores associados à característica Área Projetada de raiz na população RIL Chorinho x Puteca sob condição de estresse por seca pela análise de Marca Simples (profundidade do solo: 20-40cm)

Marcador	Grupo de ligação	Posição (cM)	Prob (<i>F</i>)
OG78	1.1	82,3	0,016*
RM431	1.1	175,7	0,030*
J3	2	135,6	0,031*
RM252	3	50,9	0,040
RM5551	3	62,1	0,029*
RM5353	8.2	0,00	0,026

* 1% significância

Foram identificados dois QTL para esta característica no cromossomo 1 através do Mapeamento de Intervalo Composto, explicando 6,5 e 9,5% da variação fenotípica, respectivamente (Figura 54, Tabela 68). Os marcadores encontram-se nas posições 60,9 e 82,3 cM. Os alelos com efeito positivo para a característica são provenientes de parentais distintos, o primeiro do parental Puteca e o segundo do parental Chorinho.

Tabela 68 - QTLs detectados para a característica de Área Projetada de raiz na população RIL Chorinho x Puteca submetida a estresse de seca na profundidade de 20 a 40 cm pelo modelo de Mapeamento de Intervalo Composto.

Intervalo	Grupo de ligação	Posição cM	LOD	Efeito aditivo	R ² (%)
RM1-RM259	1.1	60,9	2,72	-0,716	6,5
OG78-OG65	1.1	82,3	3,05	0,871	9,5

Efeito aditivo refere-se à substituição de um alelo do parental Puteca por um alelo do parental Chorinho

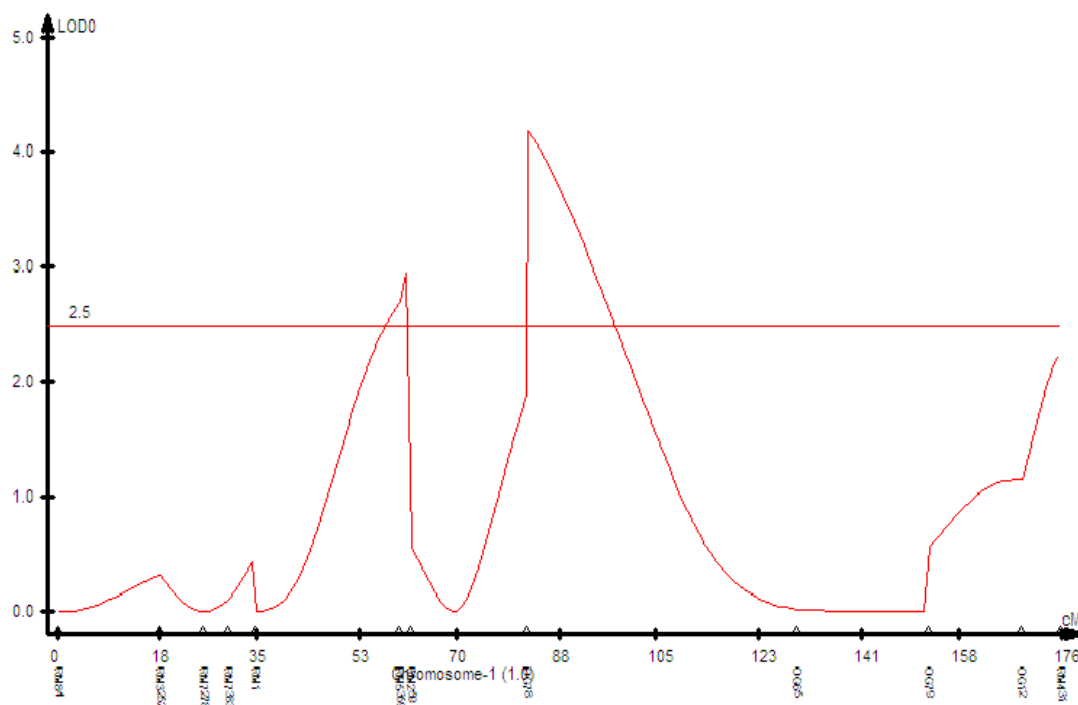


Figura 54 - QTL associado a Área Projetada de raiz na população RIL Chorinho x Puteca submetida a estresse por seca no cromossomo 1.1 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto (profundidade do solo: 20-40 cm). Valor de crítico de LOD de 2,5, representado pela linha horizontal.

Área Superficial

A análise de Marca Simples possibilitou a detecção de três marcadores associados à característica de Área Superficial de raiz sob estresse de seca, localizados nos cromossomos 1, 2 e 3 (Tabela 69).

Tabela 69 - Marcadores associados à característica Área Superficial de raiz na população RIL Chorinho x Puteca sob condição de estresse por seca pela análise de Marca Simples (profundidade do solo: 20-40cm)

Marcador	Grupo de ligação	Posição (cM)	Prob (<i>F</i>)
OG78	1.1	82,3	0,009*
J3	2	135,6	0,011*
RM5551	3	62,1	0,038*

* 1% significância

No Mapeamento de Intervalo Composto foram detectados dois QTLs no cromossomo 1 com valores de LOD de 2,69 e 3,99 (Figura 55). A percentagem de variação fenotípica explicada pelos QTLs variou entre 6,2 e 9.3%. O alelo com efeito aditivo negativo para o primeiro QTL detectado é proveniente do parental Chorinho, enquanto que para o intervalo OG78-OG65, o efeito da substituição do alelo de Puteca por Chorinho é positivo (Tabela 70).

Tabela 70 - QTLs detectados para a característica de Área Superficial de raiz na população RIL Chorinho x Puteca submetida a estresse de seca na profundidade de 20 a 40 cm pelo modelo de Mapeamento de Intervalo Composto.

Intervalo	Grupo de ligação	Posição cM	LOD	Efeito aditivo	R ² (%)
RM1- RM259	1.1	60,9	2,69	-0,11	6,2
OG78-OG65	1.1	82,3	3,99	0,13	9,3

Efeito aditivo refere-se à substituição de um alelo do parental Puteca por um alelo do parental Chorinho

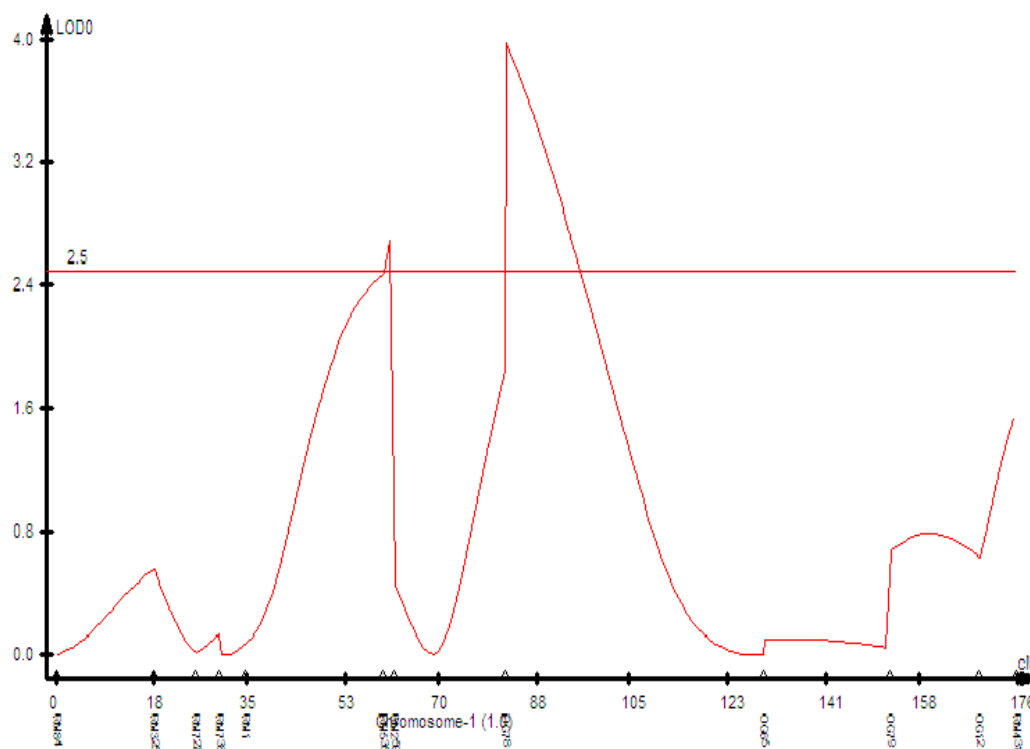


Figura 55 - QTL associado a Área Superficial de raiz na população RIL Chorinho x Puteca submetida a estresse por seca no cromossomo 1.1 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto (profundidade do solo: 20-40 cm). Valor de crítico de LOD de 2,5, representado pela linha horizontal.

Diâmetro médio de raiz

Dois marcadores significativamente associados à característica Diâmetro Médio de raiz sob condição de estresse de seca foram detectados pela análise de Marca Simples. Os marcadores localizam-se nos cromossomos 4 e 8 (Tabela 71). O nível de significância, contudo, foi superior a 0,01%. Deve-se observar que não foi detectada diferença significativa de Diâmetro médio de raiz entre as linhagens RILs nesta profundidade do solo (Tabela 57). Nenhum QTL para Diâmetro Médio de raiz foi detectado pela metodologia de Mapeamento de Intervalo Composto.

Tabela 71 - Marcadores associados à característica Diâmetro Médio de raiz na população RIL Chorinho x Puteca sob condição de estresse por seca pela análise de Marca Simples (profundidade do solo: 20-40cm)

Marcador	Grupo de ligação	Posição (cM)	Prob (F)
RM7200	4.1	10,6	0,044*
RM433	8.2	11,9	0,017*

* 1% significância

Volume de raiz

A análise de Marca Simples possibilitou a identificação de sete marcadores associados à característica de Volume de raiz sob estresse de seca, sendo três localizados nos cromossomos 1, 2 e 8, e outro quatro marcadores no cromossomo 11 (Tabela 72).

Tabela 72 - Marcadores associados à característica Volume de raiz na população RIL Chorinho x Puteca sob condição de estresse por seca pela análise de Marca Simples (profundidade do solo: 20-40cm)

Marcador	Grupo de ligação	Posição (cM)	Prob (<i>F</i>)
RM431	1.1	17,6	0,049*
J3	2	135,6	0,023*
RM5353	8.2	0,0	0,034*
RM536	11	0,0	0,018*
RM202	11	1,0	0,034*
RM7283	11	2,8	0,039*
RM7391	11	6,8	0,027*

* 1% significância

A estratégia de Mapeamento de Intervalo Composto possibilitou a detecção de um QTL no grupo de ligação 2 com valor de LOD de 3,02 (Figura 56). A percentagem de variação fenotípica explicada pelo QTL é de 6,8%. O alelo com efeito positivo para o QTL é proveniente do parental Chorinho (Tabela 73).

Tabela 73 - QTL detectado para a característica Volume de raiz na população RIL Chorinho x Puteca submetida a estresse de seca na profundidade de 20 a 40 cm pelo modelo de Mapeamento de Intervalo Composto.

Intervalo	Grupo de ligação	Posição cM	LOD	Efeito aditivo	R ² (%)
RM7511- RM498	2	135,1	3,02	0,298	6,8

Efeito aditivo refere-se à substituição de um alelo do parental Puteca por um alelo do parental Chorinho

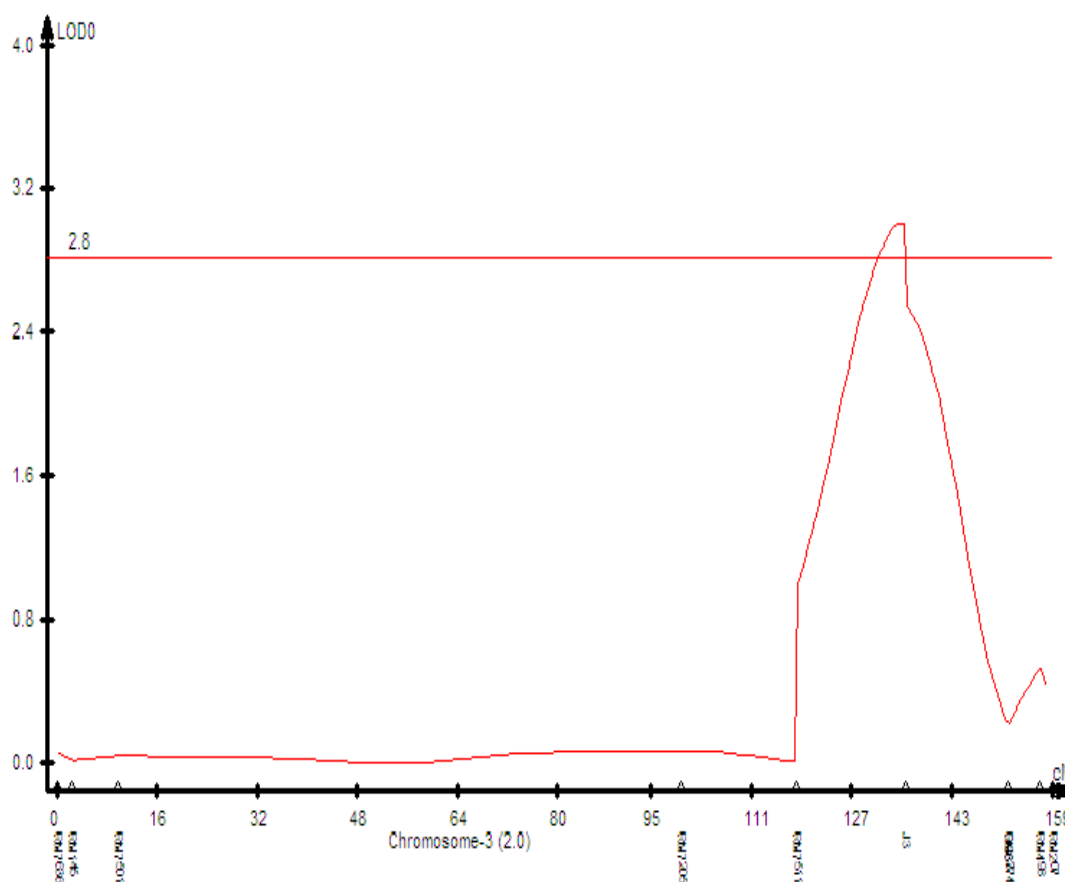


Figura 56 - QTL associado a Volume de raiz na população RIL Chorinho x Puteca submetida a estresse por seca no cromossomo 2 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto (profundidade do solo: 20-40 cm). Valor de crítico de LOD de 2,5, representado pela linha horizontal.

3.3.4 Análise de QTL de tolerância à seca na população RIL Chorinho x Puteca baseada em características radiculares avaliadas sob condição de estresse hídrico na profundidade de 40 a 60 cm do solo

Comprimento de raiz

A característica de Comprimento de raiz avaliada sob condição de estresse na profundidade de 40-60 cm, demonstrou estar associada de forma significativa a nove marcadores moleculares pela análise de Marca Simples, que estão distribuídos nos grupo de ligação 2, 4 e 5. Os resultados estão apresentados na Tabela 74.

Tabela 74 - Marcadores associados à característica de Comprimento de raiz na população RIL Chorinho x Puteca sob condição de estresse por seca pela análise de Marca Simples (profundidade do solo: 40-60cm)

Marcador	grupo de ligação	Posição (cM)	Prob (F)
J3	2	135,6	0,016
OG63	2	151,9	0,024
RM3774	2	151,9	0,024
RM498	2	157,0	0,026
RM207	2	159,0	0,024
RM335	4.1	0,00	0,016
RM7200	4.1	10,6	0,013
RM307	4.1	24,9	0,038
OG47	5	83,1	0,006

* 1% significância

A estratégia de Mapeamento de Intervalo Composto detectou um QTL no cromossomo 5 com valor de LOD de 4,36 (Figura 57). A percentagem de variação fenotípica explicada pelo QTL foi de 17,8%. O alelo com efeito aditivo negativo para o QTL detectado é proveniente do parental Chorinho (Tabela 75).

Tabela 75 - QTLs detectados para a característica de Comprimento de raiz na população RIL Chorinho x Puteca submetida a estresse de seca na profundidade de 40 a 60 cm pelo modelo de Mapeamento de Intervalo Composto.

Intervalo	Grupo de ligação	Posição cM	LOD	Efeito aditivo	R ² (%)
OG47-G61	5	99,1	4,36	-4,395	17,8

Efeito aditivo refere-se à substituição de um alelo do parental Puteca por um alelo do parental Chorinho

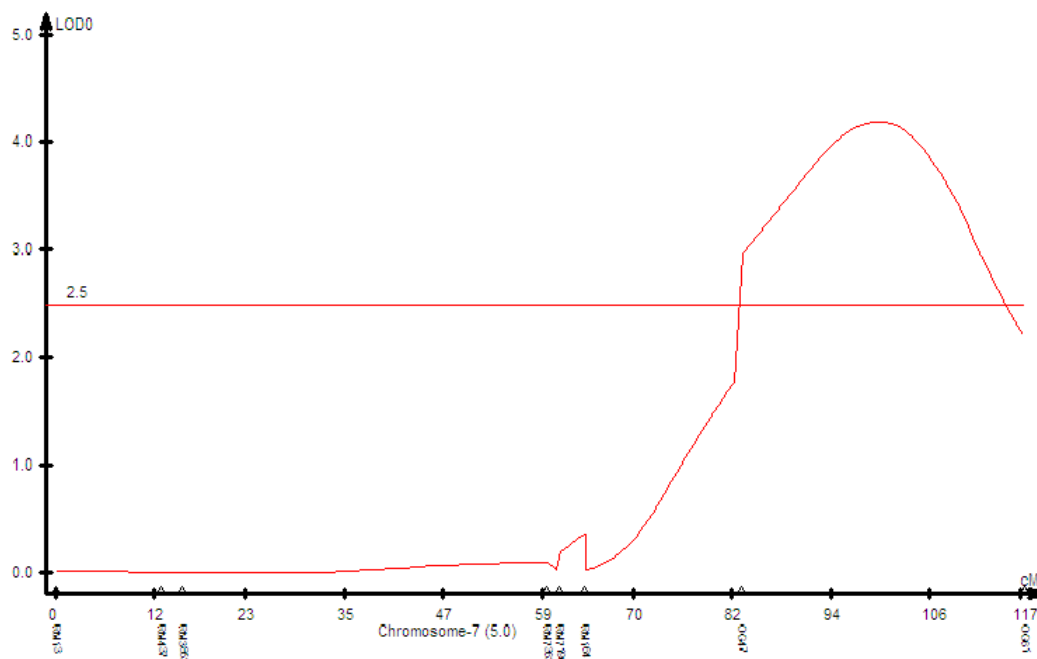


Figura 57 - QTL associado a Comprimento de raiz na população RIL Chorinho x Puteca submetida a estresse por seca no cromossomo 5 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto (profundidade do solo: 40-60 cm). Valor de crítico de LOD de 2,5, representado pela linha horizontal.

Área projetada de raiz

Seis marcadores associados à característica de Área Projetada de raiz sob estresse de seca foram detectados pela análise de Marca Simples. Os marcadores associados estão localizados nos grupos de ligação 2, 4 e 5 (Tabela 76).

Tabela 76 - Marcadores associados à característica Área Projetada de raiz na população RIL Chorinho x Puteca sob condição de estresse por seca pela análise de Marca Simples (profundidade do solo: 40-60cm)

Marcador	Grupo de ligação	Posição (cM)	Prob (F)
OG63	2	151,9	0,019
RM3774	2	151,9	0,019
RM498	2	157,0	0,040
RM335	4.1	0,00	0,017
RM7200	4.1	10,6	0,012
OG47	5	83,1	0,003

* 1% significância

A análise de Mapeamento de Intervalo Composto detectou um QTL no cromossomo 5 com valor de LOD de 3,61 (Figura 58). A percentagem de variação fenotípica explicada pelo QTL é de 10,9%. O alelo com efeito negativo para o QTL é proveniente do parental Chorinho (Tabela 77).

Tabela 77 - QTLs detectados para a característica de Área Projetada de raiz na população RIL Chorinho x Puteca submetida a estresse de seca na profundidade de 40 a 60 cm pelo modelo de Mapeamento de Intervalo Composto.

Intervalo	Grupo de ligação	Posição cM	LOD	Efeito aditivo	R ² (%)
OG47-OG61	5	0,9311	3,61	-1,12	10,9

Efeito aditivo refere-se à substituição de um alelo do parental Chorinho por um alelo do parental Puteca

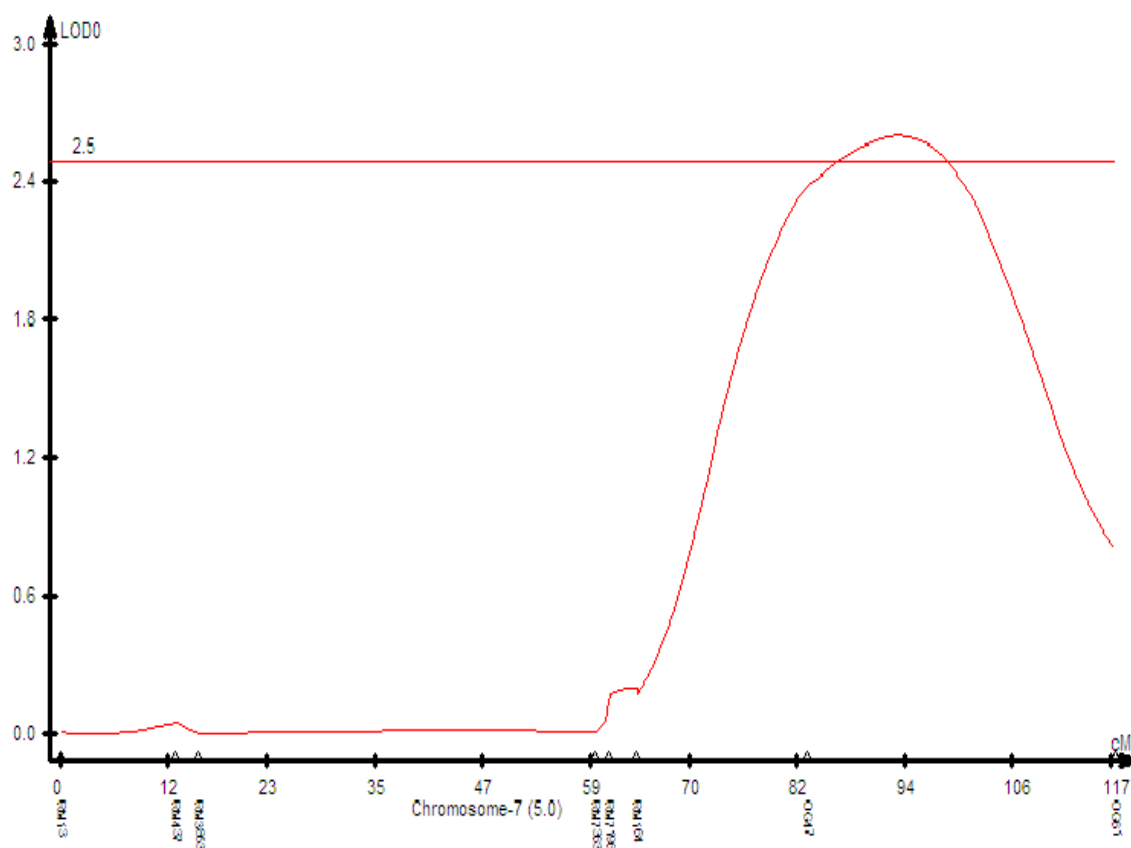


Figura 58 - QTL associado a Área Projetada de raiz na população RIL Chorinho x Puteca submetida a estresse por seca no cromossomo 5 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto (profundidade do solo: 40-60 cm). Valor de crítico de LOD de 2,5, representado pela linha horizontal.

Área superficial de raiz

A análise de Marca Simples possibilitou a identificação de sete marcadores associados à característica de Área Superficial de raiz. Os marcadores estão localizados nos cromossomos 2, 4 e 5 (Tabela 78). Nenhum QTL para área superficial de raiz foi detectado pela estratégia de Mapeamento de Intervalo Composto.

Tabela 78 - Marcadores associados à característica Área Superficial de raiz na população RIL Chorinho x Puteca sob condição de estresse por seca pela análise de Marca Simples (profundidade do solo: 40-60cm)

Marcador	Grupo de ligação	Posição (cM)	Prob (F)
J3	2	135,6	0,027
OG63	2	151,9	0,011
RM3774	2	151,9	0,011
RM498	2	157,0	0,025
RM207	2	159,0	0,017
RM335	4.1	0,00	0,030
OG47	5	83,1	0,013

* 1% significância

Diâmetro Médio de raiz

A característica de Diâmetro Médio de raiz está significativamente associada a quatro marcadores localizados nos cromossomos 2 e 4, de acordo com a análise de Marca Simples (Tabela 79).

Tabela 79 - Marcadores associados à característica Diâmetro Médio de raiz na população RIL Chorinho x Puteca sob condição de estresse por seca pela análise de Marca Simples (profundidade do solo: 40-60cm)

Marcador	Grupo de ligação	Posição (cM)	Prob (F)
RM498	2	157,0	0,018
RM207	2	159,0	0,016
RM335	4.1	0,00	0,007
RM7200	4.1	10,6	0,043*

* 1% significância / Demais locos com Significância de 5%

A análise de Mapeamento de Intervalo Composto detectou um QTL no cromossomo 3 com valor de LOD de 3,46 (Figura 59). A percentagem de variação

fenotípica explicada pelo loco é de 18,9%. O alelo com efeito positivo para o QTL é proveniente do parental Chorinho (Tabela 80).

Tabela 80 - QTLs detectados para a característica de Diâmetro Médio de raiz na população RIL Chorinho x Puteca submetida a estresse de seca na profundidade de 40 a 60 cm pelo modelo de Mapeamento de Intervalo Composto.

Intervalo	Grupo de ligação	Posição cM	LOD	Efeito aditivo	R ² (%)
RM5551-OG44	3	0.701	3,46	0,014	18,9

Efeito aditivo refere-se à substituição de um alelo do parental Puteca por um alelo do parental Chorinho

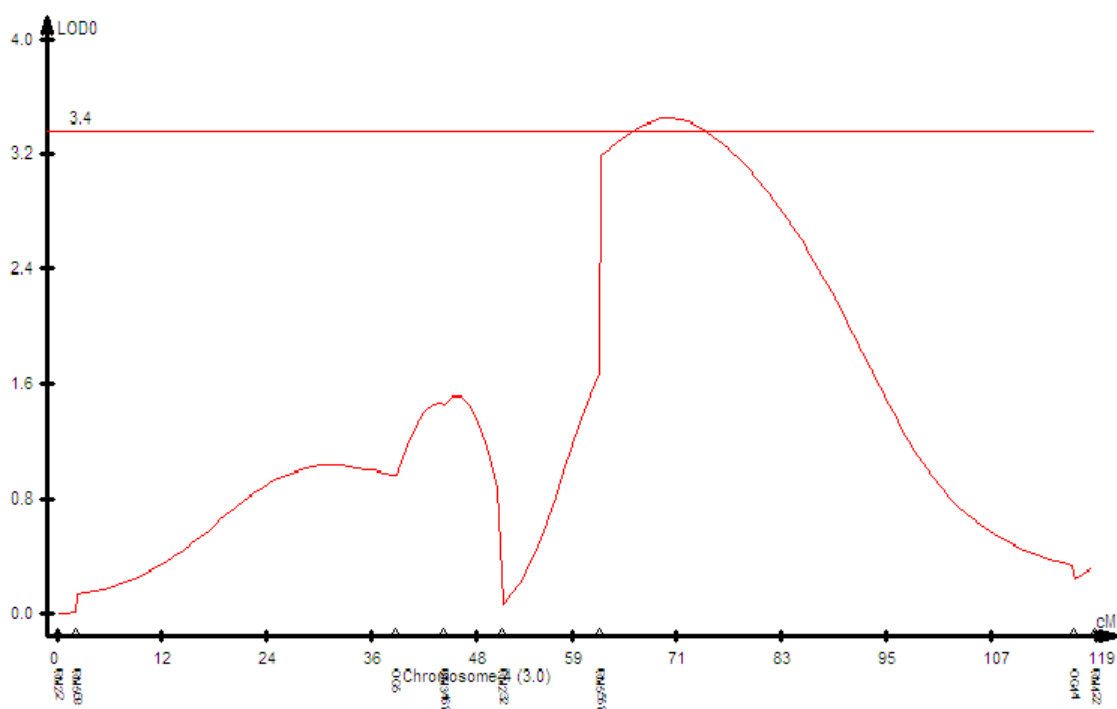


Figura 59 - QTL associado a Diâmetro Médio de raiz na população RIL Chorinho x Puteca submetida a estresse por seca no cromossomo 3 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto (profundidade do solo: 40-60 cm). Valor de crítico de LOD de 2,5, representado pela linha horizontal.

Volume de raiz

A característica de Volume de raiz está significativamente associada a seis marcadores localizados no cromossomo 2, três no cromossomo 4 e um no cromossomo 5, conforme os resultados da análise de Marca Simples (Tabela 81). Nenhum QTL para Volume de raiz foi detectado pela estratégia de Mapeamento de Intervalo Composto.

Tabela 81 - Marcadores associados à característica Volume de raiz na população RIL Chorinho x Puteca sob condição de estresse por seca pela análise de Marca Simples (profundidade do solo: 40-60cm)

Marcador	Grupo de ligação	Posição (cM)	Prob (<i>F</i>)
RM7511	2	118,1	0,027*
J3	2	135,6	0,005
OG63	2	151,9	0,005
RM3774	2	151,9	0,005
RM498	2	157,0	0,004
RM207	2	159,0	0,004
RM335	4.1	0,00	0,001
RM7200	4.1	10,6	0,012*
RM567	4.2	34,0	0,049*
RM7363	5	59,6	0,023*

* 1% significância / Demais locos - Significância 5%

Síntese do mapeamento de QTL de tolerância à seca na população RIL Chorinho x Puteca utilizando dados radiculares coletados no campo

Foram detectados três QTLs para características radiculares na profundidade de solo de 20 a 40 cm. Estes QTLs estão localizados nos cromossomos 1 e 2, explicando individualmente cerca de 7% da variação fenotípica (Tabela 82; Figura 60). Dois QTLs foram detectados nos grupos de ligação 3 e 5 para a profundidade de 40 a 60 cm explicando variações fenotípicas com valores de 17,8 e 18,9 provenientes de parentais distintos (Tabela 82; Figura 60).

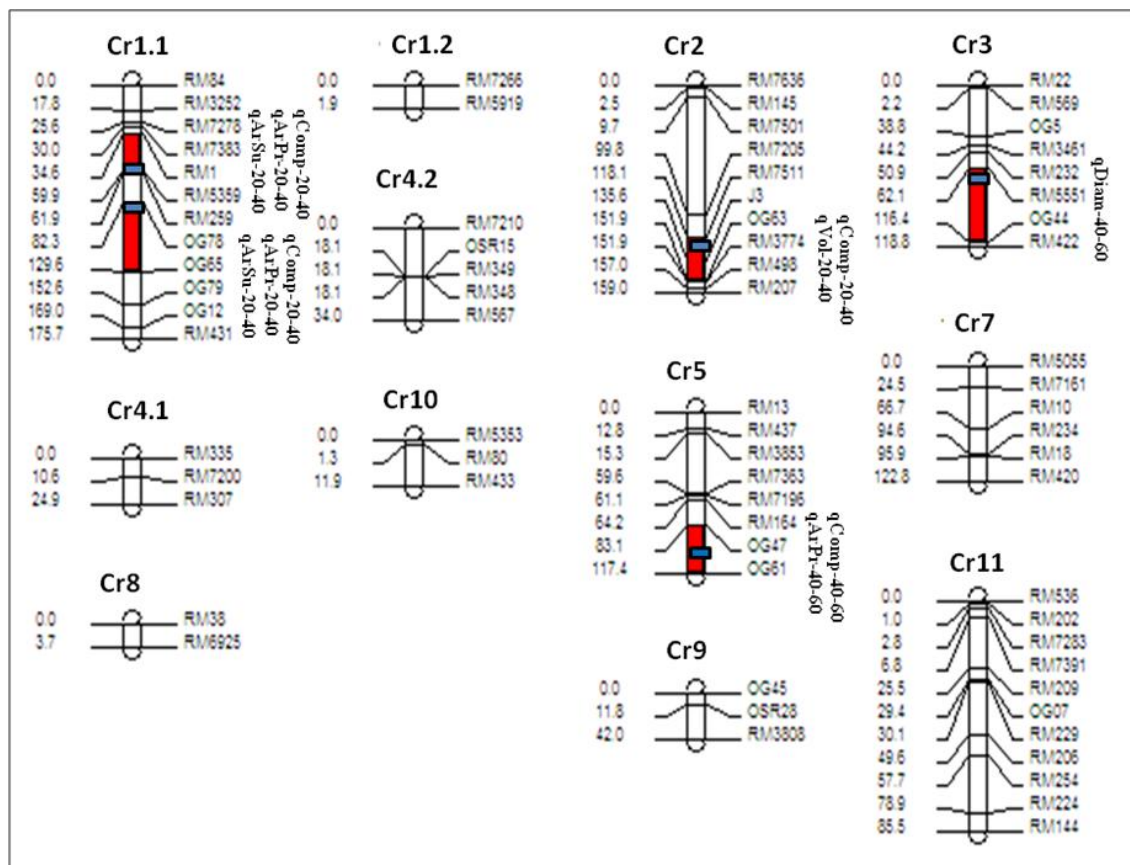


Figura 60 - Mapa genético de *Oryza sativa* baseado na população RIL Chorinho x Puteca (Pessoa Filho, 2008), com a descrição dos QTLs identificados no presente estudo (qDT – QTL Drought Tolerance, seguido do número do cromossomo correspondente) representados pelas barras verticais.

Tabela 82 - QTLs de tolerância à seca na população RIL Chorinho x Puteca submetida a estresse de seca no campo

Característica	Intervalo	Cromossomo	Posição cM	LOD	Efeito aditivo	R ² (%)	Profundidade do sol
Comp/ArPr/ArSu	RM1-RM259	1.1	60,9	2,72	-0,323	6,2	20-40
Comp/ArPr/ArSu	OG78-OG65	1.1	82,3	3,05	0,321	7,0	20-40
Comp/Vol	RM7511-OG63	2	134,1	2,64	0,28	7,8	20-40
Comp/ArPr	OG47-G61	5	99,1	4,36	-4,395	17,8	40-60
DiaM	RM5551-OG44	3	0,701	3,46	0,014	18,9	40-60

Efeito aditivo refere-se à substituição de um alelo do parental Puteca por um alelo do parental Chorinho

Locos de características quantitativas para tolerância à seca foram identificados por diversos autores através de mapeamento de QTLs. Estes mapas foram desenvolvidos para diferentes populações (cruzamentos), avaliados em ambientes distintos e em vários estádios de desenvolvimento das plantas. Alguns QTLs de tolerância à seca detectados no presente trabalho para características radiculares estão localizados na mesma região cromossômica identificada por outros estudos.

O QTL localizado no cromossomo 3 entre os marcadores RM5551-OG44 foi detectado por diferentes autores (PESSOA-FILHO, 2008; GOMEZ *et al.*, 2006; Hemamalini *et al.*, 2000) (Tabela 83). O QTL mapeado no grupo de ligação 1.1 entre os marcadores RM1-RM259 foi identificado para altura de planta e ajuste osmótico em plantas sob estresse hídrico (ROBIN *et al.*, 2003; GOMEZ *et al.*, 2006). GOMEZ *et al.* (2006) localizaram um QTL para ressecamento de folha no cromossomo 1 nos intervalos entre os marcadores OG78-OG67 que está associado a três características radiculares na profundidade de 20 a 40 cm. O QTL entre os marcadores OG47-OG61 detectado no cromossomo 5 para comprimento e área projetada de raiz na profundidade de 40 a 60 cm, foi identificado por GOMEZ *et al.* (2006) para enrolamento de folha e altura de planta sob estresse hídrico e por PRICE *et al.* (2000) para comprimento e penetração de raízes sob estresse de seca (Tabela 83). O QTL mapeado entre os marcadores RM7511 e OG44 localizado no cromossomo 2 para comprimento e volume de raiz na profundidade de 20 a 40 cm, foi localizado por HEMAMALINI *et al.* (2000), PRICE *et al.* (2000) e ZHANG *et al.* (2001) para tolerância à seca e penetração de raiz no solo em condições de estresse hídrico.

Tabela 83 - Regiões comuns de QTL para tolerância à seca descrita para diferentes populações (cruzamentos), ambientes de avaliação e estádios de desenvolvimento da planta

QTL Presente estudo	Estudos prévios	Grupo de ligação	Intervalo	Posiçã o cM	LOD	Efeito aditivo	R ² (%)	Referência
qDiam-40-60	Alt3m-G	3	RM5551- OG44	90,1	2,6	4,62	42,2	Pessoa-Filho,2008
qComp/ArPr/ArSu- 20-40	Ajuste osmótico	1	OSR2- RM259	105	5,7	-	22,0	Robin <i>et al.</i> ,2003
qComp/ArPr(ArSu- 20-40	Ressecamento folha	1	C178+16	76,7	3,4	0,312	6,9	Gomez <i>et al.</i> , 2006
qComp/ArPr/ArSu- 20-40	Altura da planta	1	RG532	0,0	3,1	-0,141	5,3	Gomez <i>et al.</i> , 2006
qDiam-40-60	Ressecamento folha	3	G144+8	91,4	3,7	0,317	9,1	Gomez <i>et al.</i> , 2006
qComp/ArPr-40-60	Enrolamento da folha	5	C624+10	85,2	3,5	-0,307	7,6	Gomez <i>et al.</i> , 2006
qComp/ArPr-40-60	Altura da planta	5	RZ70	87,9	4,6	-0,173	7,8	Gomez <i>et al.</i> , 2006
qComp/Vol-40-60	Ajuste osmótico	2	RM263- RM3393		3,0		8,9	Zhang <i>et al.</i> ,2001
qComp/Vol-40-60	Tolerância à seca	2	RM526- RM525		2,4		5,7	Liu <i>et al.</i> , 2005
qDiam-40-60	Tolerância à seca	3	RZ448- RZ519		1,92		16,8	Hemamalini <i>et al.</i> ,2000
qComp/Vol-40-60	Penetração de raiz	2	R221 (G39)				18,0	Price <i>et al.</i> , 2000
qComp/ArPr-40-60	Comprimento- penetração de raiz	5	C43					Price <i>et al.</i> , 2000
qComp/ArPr-40-60	Comprimento- penetração de raiz	5	RZ70					Price <i>et al.</i> , 2000

q= QTL- seguido do(s) parâmetro(s) analisado(s) e profundidade do solo (20-40cm/ 40-60cm).

Este trabalho foi desenvolvido com a utilização de população de linhagens puras recombinantes em geração F₇ a partir do cruzamento entre as variedades tradicionais Chorinho e Puteca, pertencentes à subespécie *japonica*. Sua importância está no fato de ser um cruzamento intra-subespecífico, pois a identificação e o uso de doadores de caracteres de importância para o melhoramento e pertencentes ao mesmo grupo genético é relevante devido aos problemas de fertilidade entre os cruzamentos inter-subespecíficos (MACKILL, 1995) e de manutenção de características relevantes em cada modo de produção. Além disso, a população é composta por linhagens imortalizadas, o que permitirá o desenvolvimento de diversos ensaios para a tolerância em diferentes ambientes e em diferentes tratamentos de estresse, permitindo o aprofundamento da análise dos QTLs detectados no presente trabalho.

A maioria dos estudos de mapeamento de QTLs de tolerância à seca têm sido baseados em populações geradas a partir de cruzamentos inter-subespecíficos (*indica x japonica*) (GOMEZ, *et al.* 2006; PRICE *et al.*, 2002; WANG *et al.*, 2004; NORTON *et al.*, 2009). Poucos estudos utilizam parentais pertencentes à mesma subespécie (Li *et al.* 2005; QU *et al.* 2008; PESSOA FILHO, 2008). No entanto, os programas de melhoramento tendem a utilizar cruzamentos dentro da mesma subespécie (*indica x indica; japonica x japonica*), adaptados aos modos de produção de grãos (irrigado, sequeiro), possibilitando a introgressão de alelos favoráveis à característica de interesse com redução de efeitos epistáticos negativos (BERNARDO, 2008). O uso de genótipos divergentes em estudos de mapeamento sem dúvida maximiza a probabilidade de detecção de marcadores moleculares polimórficos entre os genitores da população e pode aumentar a possibilidade de detecção de QTL para as características desejadas. No entanto, entre os QTLs detectados em tais cruzamentos (ex. *indica x japonica*) existem aqueles que podem não ser relevantes para o modo de produção desejado (ex. sequeiro), provavelmente porque os alelos de interesse já foram fixados ao longo do processo de seleção para um modo de produção específico.

A utilização de parentais geneticamente próximos em um cruzamento visando mapeamento genético pode gerar um baixo percentual de polimorfismo para a construção de mapa de ligação. O polimorfismo encontrado para o cruzamento entre Chorinho e Puteca foi de apenas 19%, o que é relativamente baixo quando comparado

com outros estudos. LI *et al.* (2005), por exemplo, detectaram índices de polimorfismo de 33% em um cruzamento entre acessos *japonica* e QU *et al.* (2008) constataram aproximadamente 41% de polimorfismo em outro cruzamento intra-específico. Mesmo com 437 marcadores testados, a proximidade genética entre os Chorinho e Puteca não permitiu que mais locos microssatélites fossem utilizados na construção do mapa genético. Deve ser enfatizado, contudo, que entre os possíveis genitores avaliados entre variedades tradicionais e cultivares do grupo *japonica*, Chorinho e Puteca possuem razoável distância genética (Capítulo 1). Setenta e seis locos foram agrupados gerando um mapa com um comprimento total de 897,5 cM, apesar da ausência de marcadores nos cromossomos 6, 10 e 12. Os cromossomos 1, 4 e 8 ficaram fragmentados em dois grupos de ligação cada devido à falta de marcadores em desequilíbrio de ligação nos intervalos dos marcadores mapeados. É importante que seja realizada uma cobertura mais completa de mapa com um número maior de marcadores, principalmente nos grupos de ligação mais promissores ao aprofundamento do estudo de detecção de QTLs de tolerância à seca. Por exemplo, aumentar a saturação no cromossomo 9, onde QTLs relacionados com o incremento do comprimento radicular foram recentemente detectados (LANG & BUU, 2008).

Houve diferença significativa entre os parentais do cruzamento para todas as características avaliadas. O parental mais tolerante à seca (Chorinho) apresenta desempenho 30% acima da média da população sob condição de estresse. Em condições normais de disponibilidade de água, o parental Chorinho apresenta melhor desempenho em relação ao Puteca na profundidade de 20 a 40 cm, porém, na profundidade de 40 a 60 cm o parental Puteca apresentou melhor desenvolvimento. Em condições de estresse hídrico, no entanto, o parental Chorinho teve a melhor performance nas duas profundidades, com exceção da característica Diâmetro Médio da raiz.

Em ambas profundidades de solo (20-40 e 40-60 cm) são observados genótipos transgressivos para os parâmetros radiculares avaliados, ou seja, acima dos valores do parental com valor mais alto, ou abaixo do valor do parental de menor performance. Nas avaliações de 40 a 60 cm sob estresse de seca são observados genótipos com desempenho superior aos apresentados pelas linhagens sob a condição controle. Ou seja, tais genótipos sob estresse hídrico emitem mais raízes nas camadas mais profundas do

solo, permitindo maior absorção de água. O sistema radicular profundo e denso tem sido considerado vantajoso para o incremento de tolerância à seca. A condição de estresse hídrico induz modificações na arquitetura da raiz nos genótipos mais tolerantes (FUKAI *et al.*, 1995; KAMOSHITA *et al.* 2002).

Com exceção de Diâmetro médio de raiz e ISSDiam, a análise de correlação entre as características medidas na profundidade de 20-40 cm e 40-60 cm (Tabela 64) apresenta valores de correlação significativos e positivos, porém inferiores a 0,40%. Isto parece indicar que a análise de características nas duas profundidades de solo é necessária para uma apreciação adequada dos mecanismos de tolerância à seca no campo. De fato, os QTLs mapeados na profundidade de 20-40cm são distintos dos QTLs mapeados na profundidade de 40-60cm. Não está evidente ainda a potencial utilização dos Índices de Suscetibilidade à Seca no mapeamento de QTLs.

Neste trabalho foram detectados três QTLs de tolerância à seca associados às características radiculares mensuradas entre 20 e 40 cm de profundidade no solo. O QTL mapeado no cromossomo 1 entre os marcadores RM1-RM259 foi detectado pelas análises de dados de Comprimento, Área Projetada e Área Superficial de raiz. Esta mesma região foi identificada por diferentes autores em estudos de tolerância à seca, associadas às características de altura de planta e ajuste osmótico (ROBIN *et al.*, 2003; GOMEZ *et al.*, 2006).

O QTL mapeado no cromossomo 1 entre os marcadores OG78-OG65 também foi detectado pela análise de dados de Comprimento, Área Projetada e Área Superficial de raiz entre 20 e 40 cm de profundidade de solo. GOMEZ *et al.* (2006) localizaram um QTL para ressecamento de folha sob estresse hídrico 1 nesta mesma região

Análise de dados de Comprimento e Volume de raiz entre 20 e 40 cm de profundidade de solo possibilitou a detecção do QTL localizado no intervalo entre RM7511 e OG44, no cromossomo 2. Esta região está associada à tolerância à seca e capacidade de penetração de raiz no solo em condições de estresse hídrico (LIU *et al.*, 2005, ZHANG *et al.*, 2001 e PRICE *et al.*, 2000).

Já a análise de dados de Comprimento e Área Projetada de raiz entre 40 e 60 cm de profundidade de solo possibilitou a detecção do QTL localizado no intervalo entre OG47-OG61, no cromossomo 5. Esta é a mesma região genômica identificada por GOMEZ *et al.* (2006) para enrolamento de folha e altura de planta em condições de estresse hídrico e por PRICE *et al.* (2000) para comprimento e penetração de raízes.

Em análises de parâmetros de produtividade com esta mesma população RIL Chorinho x Puteca (PESSOA-FILHO, 2008) identificou um QTL no grupo de ligação 3 entre os marcadores RM5551-OG44 para altura de planta. O alelo doador é do parental Chorinho e responde por 42% da variação fenotípica. Neste trabalho esta região foi detectada em associação com a característica Diâmetro Médio de raiz na profundidade de 40 a 60 cm, explicando 18,9% da variação fenotípica. HEMANALINI *et al.* (2000) e GOMEZ *et al.* (2006) detectaram este mesmo QTL para altura de planta e ressecamento de folha em experimentos de tolerância à seca.

É interessante observar que o marcador RM498, localizado próximo ao intervalo RM7511-OG63 no cromossomo 2, flanqueia um QTL identificado para Comprimento e Volume de raiz, e está associado de forma significativa a todas as características radiculares avaliadas na profundidade de 40 a 60 cm pela análise de Marca Simples. Da mesma forma, o marcador OG63, que flanqueia o mesmo QTL no cromossomo 2, está significativamente associado pela análise de Marca Simples, às características Comprimento (profundidade de 20 a 40 cm) e a todas as características analisadas na profundidade de 40 a 60 cm, com exceção do Diâmetro Médio de raiz.

Algumas linhagens demonstraram desenvolvimento de Comprimento, Área Projetada e Área Superficial superiores na condição de estresse hídrico (profundidade de 40 a 60 cm) do que na condição controle. Isso indica que, sob estresse, algumas linhagens apresentam melhor desempenho em busca de umidade nas camadas mais profundas do solo. Outro fato interessante é que não foi observado o aumento do Diâmetro Médio das raízes nesta profundidade, o que é interessante visto que raízes com menores diâmetros são mais eficientes na captação de água.

3.4 CONCLUSÕES

Foram identificados QTLs de tolerância à seca com base na análise de raízes coletadas em diferentes profundidades do solo nos cromossomos 1, 2, 3 e 5. Os QTLs detectados com base em amostras coletadas a 20-40 cm de profundidade são distintos dos QTLs detectados com base em amostras coletadas a 40-60 cm de profundidade. O desenvolvimento radicular em arroz de sequeiro concentra-se numa profundidade entre 10 e 30 cm e em situação de estresse as raízes tendem a desenvolver em maior profundidade em busca de umidade.

Vários QTLs de tolerância à seca detectados neste trabalho encontram-se na mesma região genômica de QTLs detectados em outros experimentos de tolerância a estresse hídrico. A complementação dessas informações deve auxiliar a validação de QTLs associados ao controle de tolerância à seca e o desenvolvimento de estratégias de seleção assistida nos programas de melhoramento.

O fato da população utilizada neste estudo ser composta por linhagens imortalizadas torna possível o desenvolvimento de ensaios complementares para a tolerância à seca, permitindo o aprofundamento da análise de identificação de regiões genômicas associadas ao controle da característica.

Genótipos transgressivos da progênie que contém múltiplos QTLs para tolerância à seca foram identificados que poderão ser potencialmente explorados pelos programas de melhoramento genético.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O sequenciamento do genoma estrutural de arroz (YU *et al.*, 2002; GOFF *et al.*, 2002) disponibilizou um grande volume de informações moleculares em bancos de dados de sequência de DNA em diversos países. A análise destes dados permite a seleção de regiões genômicas úteis no desenvolvimento de ferramentas moleculares para emprego na análise genética de Bancos de Germoplasma e uso no melhoramento genético de plantas. Neste trabalho, centenas de locos de regiões hipervariáveis (microssatélites) distribuídos em todo genoma foram selecionados com o objetivo de (a) desenvolver painéis de amplificação alélica simultânea (painéis multiplex) para estudos genéticos e (b) desenvolver mapas genéticos para a identificação de regiões genômicas que controlam tolerância à seca e ao frio em arroz.

Centenas de marcadores microssatélites selecionados foram inicialmente testados para qualidade de amplificação e detecção de polimorfismo entre acessos do germoplasma de arroz. Estimativas de parâmetros genéticos de cada marcador microssatélite foram obtidas com base na genotipagem de amostras de germoplasma de arroz. Quarenta e um marcadores microssatélites, em geral altamente informativos na discriminação de acessos, foram usados no desenvolvimento dos novos painéis multiplex de PCR simultânea.

Apesar do grande volume de estudos genéticos realizados com arroz ainda são limitados os relatos de painéis multiplex desenvolvidos para este fim até o momento. Os oito painéis multiplex desenvolvidos neste trabalho foram testados em diferentes estudos genéticos. No primeiro estudo, os testes de identidade entre acessos com a mesma denominação na Coleção de Base de Arroz indicaram um nível elevado (>64%) de acessos duplicados na coleção. A redundância de acessos em uma coleção naturalmente onera sobremaneira a sua conservação. A detecção de redundância questiona a qualidade da própria coleção, visto que um grande número de acessos duplicados aumenta o seu tamanho, mas levanta dúvidas sobre a real representação da diversidade genética de uma espécie na coleção. A genotipagem baseada em painéis multiplex, portanto, aumenta a eficiência de gerenciamento, uso e manutenção de um Banco de Germoplasma. No segundo estudo, a genotipagem de uma amostra de acessos

do Banco de Germoplasma baseada em 405 marcadores microssatélites sugere relações de vínculo genético idênticas às estabelecidas através da genotipagem da mesma amostra com apenas três dos painéis desenvolvidos neste trabalho. Estes dados atestam a eficiência do emprego de destes painéis multiplex em análise de vínculo genético. No terceiro estudo, foi possível identificar linhagens com até 97% de conversão para o genoma do parental recorrente ainda na geração RC3. O emprego de painéis multiplex em programas de conversão de linhagens acelera o processo de conversão e possibilita estimativas precisas do grau de conversão para a seleção das famílias mais promissoras nas primeiras gerações de retrocruzamento. O emprego de painéis multiplex de marcadores microssatélites em estudos genéticos de arroz é, portanto, muito eficiente.

As estimativas de diversidade genética entre os acessos baseadas nos painéis multiplex foram ainda utilizadas para selecionar cultivares de arroz para uso em estudos de mapeamento de regiões do genoma associadas ao controle de tolerância à seca e ao frio. Ensaio fenotípicos de tolerância à seca e ao frio são complexos. O emprego de seleção indireta usando marcadores microssatélites para características de difícil avaliação podem tornar o melhoramento para estas características mais eficiente.

As cultivares Chorinho e Amaro (subespécie *japonica*) foram cruzadas para a obtenção de linhagens puras recombinantes (RILs – *Recombinant Inbred Lines*) para mapeamento genético de QTLs de tolerância ao frio. Um mapa genético foi construído para a população RIL Chorinho x Amaro, cobrindo 1.278 cM. Os ensaios fenotípicos para tolerância ao frio foram desenvolvidos em campo e em condições controladas. Na análise de dados coletados no campo foram detectadas oito QTLs de tolerância ao frio nas avaliações de parâmetros de produtividade e quatro QTLs nas análises de viabilidade de pólen, localizados nos cromossomos 1, 2, 3, 5, 8, 9, 10 e 11. Em condições controladas foi possível detectar quatro QTLs associados ao controle de tolerância ao frio durante a germinação, localizados nos cromossomos 3 e 7. Um dos QTLs identificados em condições controladas corresponde ao intervalo no cromossomo 3 em que foi detectada uma região genômica associada às características Viabilidade de Pólen e Peso Parcial de Panículas, avaliadas em condições de campo.

As cultivares Chorinho e Puteca (subespécie *japonica* tropical) foram cruzadas para a obtenção de linhagens puras recombinantes para mapeamento genético de QTLs de tolerância à seca. Um mapa genético baseado nos marcadores microssatélites foi construído para a população RIL Chorinho x Puteca, cobrindo 897,5 cM (PESSOA FILHO, 2008). Os ensaios fenotípicos para tolerância à seca foram desenvolvidos em campo em local de estiagem prolongada (Gurupi – TO) com o uso de irrigação controlada e estresse hídrico durante o desenvolvimento das plantas. Para este estudo foram avaliados parâmetros de desenvolvimento radicular em duas profundidades de solo (20-40 cm e 40-60 cm). Baseado nos dados genotípicos e fenotípicos foi possível detectar cinco QTLs associados ao controle de tolerância à seca, distribuídos nos cromossomos 1, 2, 3 e 5. Os QTLs de tolerância à seca identificados para características radiculares na profundidade 20-40 cm são diferentes dos QTLs identificados na profundidade de 40-60cm.

Algumas das características analisadas apresentam correlação significativa e elevada. Alguns dos QTLs detectados com base nestas características estão localizados na mesma região do genoma, indicando ser desnecessário a avaliação de todas elas em estudos de mapeamento. Vários QTLs de tolerância à seca e ao frio detectados neste trabalho encontram-se na mesma região genômica de QTLs detectados em outros experimentos, desenvolvidos em diferentes locais com a utilização de diferentes populações de arroz. A complementação dessas informações deve auxiliar a validação e seleção de QTLs associados ao controle destas características no melhoramento genético.

Os dados obtidos possibilitam o emprego de painéis multiplex de microssatélites na caracterização e uso de acessos do Banco de Germoplasma, bem como o desenvolvimento e teste de estratégia de seleção assistida por marcadores para tolerância à seca e ao frio em arroz.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEN, D.J. & ORT, D. Impacts of chilling temperatures on photosynthesis in warm-climate plants. **Trends in Plant Science**, Vol 6 N1 36-42, 2001.

ALI, M.; JENSEN, C.R.; MOGENSEN, V.O.; ANDERSEN, M.N.; HENSON, I.E. Root signaling and osmotic adjustment during intermittent soil during sustain grain yield of field grown wheat. **Field Crops Research**, 62: 35-52, 1999.

AKAGI, H.; YOKOZEKI, Y.; INAGAKI, A.; FUGIMURA, T. Microsatellite DNA markers for rice chromosomes. **Theor. Appl Genet**, 93: 1071-1077, 1996.

ALCOCHETE, A. A. N. Diversidade genética e mapeamento de QTLs do sistema gênico de macho-esterilidade termo-sensível (TGMS) do genoma de arroz (*Oryza sativa* L.). **Tese de doutorado** – UnB, 293p, 2005.

ANDAYA, V.C. AND TAI, T. H. Fine mapping of qCTS12 locus, a major QTL for seedling cold tolerance in rice. **Theor Appl Genet**, 113:467-475, 2006.

ANDAYA, V.C. AND MACKILL, D.J. Mapping of QTLs associated with cold tolerance during the vegetative stage in rice. *J. Exp. Botany*, 23:1-7, 2003.

ARUMUNAGATHAN, K. AND EARL, E.D. Nuclear DNA content of some important plant species. **Plant Mol Bio Rep**, 9 : 208-218, 1991.

BARRETT, B. A. & KIDWELL, K.K. 1998. AFLP- based genetic diversity assessment among wheat cultivars from the Pacific Northwest. **Crop Sci**. 38:1261-1271

BELEZA, S., ALVES, C., GONZÁLEZ-NEIRA A., LAREU, M., AMORIM, A., CARRACEDO, A., GUSMÃO, L. Extending STR markers in Y chromosome haplotypes. **Int J Legal Med**, 117: 27-33, 2003.

BERNARDO, R. Molecular markers and selection for complex traits in plants: Learning from the 20 years. **Crop Science**, v.47, n.2, p.507-516, 2008.

BLAIR, M.W; HEDETALE V.; MCCOUCH, S.R. Fluorescent-labeled microsatellite panels useful for detecting allelic diversity in cultivated rice (*Oryza sativa* L.). **Theor App Genet**, 105:449-457, 2002.

BOSCH, E., LEE, A.C., CALAFELL, F., ARROYO, E., HENNEMAN, P., KNIJFF, P., JOBLING, M.A. High resolution Y chromosome typing: 19 STRs amplified in three multiplex reactions, **Forensic Sci. Int.** 125, 42-51, 2002.

BOWCOCK A.M., RUIZ-LINARES A., TOMFOHRDE J., MINCH E., KIDD J.R., CAVALLI-SFORZA L.L. High resolution of human evolutionary trees with polymorphic microsatellites. **Nature**, 368:455–457, 1994.

BRAY, E. A.; BAILEY-SERRES, J.; WERETILNYK, E. Responses to Abiotic Stresses. **The Cell**, 22: 1158-1177, 2000.

BRETON, G., DANYLUK, J., CHARRON, J.B.F., SARTHAN, F. Expression Profiling and Bioinformatic Analyses of a Novel Stress-Regulated Multispanning Transmembrane Protein Family from Cereals and abidopsis. **Plant Physiology**, vol. 132, pp. 64-74, 2003.

BRIM, C.A. A modified pedigree method of selection in soybeans. **Crop Science**, Madison, V.6, p.222, 1966.

Brzustowski, J. Doh assignment test calculator.
<<http://www2.biology.ualberta.ca/jbrzusto/Doh.php>, 2003.

BURR, B. Mapping and Sequencing the Rice Genome. **Plant Cell**, Vol. 14, 521-523, 2002.

BUTLER, J.M., SCHOSKE, R, VALLONE, P.M, KLINE, M.C., REDD, A.J., HAMMER, M.F. A novel multiplex for simultaneous amplification of 20 Y chromosome STR markers, **Forensic Sci. Int.** 129, 10-24, 2002.

CARRANO, A.V., LAMERDIN, J., ASHWORTH, L.K., WATKINS, B., BRANSCOMB, E., SLEZAK, T., RAFF, M., DE JONG, P.J., KEITH, D., MCBRIDE, L., MEISTER, S., KRONICK, M. A high resolution, fluorescence-based, semi-automated method for DNA fingerprinting. **Genomics**, 4(2):129-136, 1989.

CHATEL, M.; GUIMARÃES, E. Selección Recurrente con Androesterilidad en Arroz. **CIRAD-CIAT**, 70p, 1995.

CHEN, M., *et al.* An integrated physical and genetic map of the rice genome. **Plant Cell**, 14: 537–545, 2002.

CLARK, L.J., PRICE, A.H., STEELE, K.A., AND WHALLEY W.R. Evidence from near-isogenic lines that root penetration increases with root diameter and bending stiffness in rice **Functional Plant Biology**, 35: 1163-1171, 2008.

COBURN, J. R.; TEMNYKH, S. V.; PAUL, E. M.; AND MCCOUCH, S. R. Design and Application of Microsatellite Marker Panels for Semiautomated Genotyping of Rice (*Oryza sativa* L.) **Crop. Sci.** 42:2092-2099, 2002.

COLLARD, B.C.Y.; JAHUFER, M.Z.Z.; BROUWER, J.B. & PANG, E.C.K. An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts. **Euphytica**, v.142, p.169-196, 2005.

COSTA, E.G.C., SANTOS, A.B., ZIMMERMANN, F.J.P. Característica agronômicas da cultura principal e da soça do arroz irrigado. **Ciências agrotécnicas**, Lavras, v.24 (Edição especial), p.15-24, 2000.

COURTOIS, B., AHMADI, N., KHOWAJA, F., PRICE, A., RAMI J.F., FROUIN, J., HAMELIN, C., AND RUIZ, M. Rice root genetic architecture: meta-analysis from a QTL database improves resolution to a few candidate genes. *Rice* (in press) 2009.

CRUZ, R. P., MILACH, S.C.K., FEDERIZZI, L.C. Inheritance of rice cold tolerance at the germination stage. *Genetics and Molecular Biology*, 29,2,314-320, 2006.

CRUZ, C.D.; GQMOL versão 2.1. Disponível em <http://www.ufv.br/dbg/gqmol.htm>. 2004.

DAI, L., LIN, X., YE, C., ISE, K., SAITO, K., KATO, A., XU, F., YU, T., ZHANG, D. Identification of quantitative trait loci controlling cold tolerance at the reproductive stage in Yunnan landrace of rice, Kunmingxiaobaigu. *Breeding Science*, 54:253-258, 2004.

DATTA, D. & SIDDIQ, E.A. Genetic analysis of cold tolerance at seedling phase in rice. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, New Delhi, vol. 43, p.345-349, 1983.

McCOUCH, S.R. & DOERGE, W. QTL mapping in Rice. doi:10.1016/S0168-9525(00)89157-X, 2000.

DEVOS, K.M. AND GALE, M.D. Comparative genetics in the grasses. *Plant Mol. Biol.* 35, 3-15, 1997.

DOEBLEY, J., STEC, A. & HUBBARD, L. The evolution of apical dominance in maize. *Nature*, 386: 485-488, 1997.

EDWARDS, A.; CIVITELLO, A.; HAMMOND, H.A.; CASKEY, C.T. DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats. *Am J Hum Genetic*, 49:746-756, 1991.

EKANAYAKE, I.J.; STEPONKUS, P.L.; DE DATTA, S.K. Sensitivity of pollen to water deficits at anthesis in upland Rice. *Crop Sci*, 30:310-315, 1990.

EPAGRI. A cultura do arroz irrigado – Sistema pré-germinado. Florianópolis, 273 p, 2002.

FARRELL, T.C., FOX, K.M., WILLIAMS, R.L., FUKAI, S. Genotypic variation for cold tolerance during reproductive development in rice: screening with cold air and cold water. **Field Crops Research**, 98: 178-194, 2006.

FARRELL, T.C., FOX, K.M., WILLIAMS, R.L., FUKAI, S., LEWIN, G. Avoiding low temperature damage in Australia's rice industry with photoperiod sensitive cultivars. **The Australian Society of Agronomy**, 2003.

FARRELL T.C., FOX K.M., WILLIAMS R.L., FUKAI S. Genotypic variation for cold tolerance during reproductive development in rice: screening with cold air and cold water. **Field Crops Research**, 98:178–194, 2006.

FERREIRA, M.E. & GRATTAPAGLIA, D. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. 220p. Embrapa –SPI, 1998.

FERREIRA, M.E. Melhoramento genético de arroz: impactos da genômica. In: Melhoramento Genômico. Eds. Borém, A., Giudice, M. & Sedyama, T. Universidade Federal de Viçosa. pp. 73-129, 2003.

FERREIRA, M.E. Genotipagem de coleções de germoplasma vegetal. In: Faleiro, F. G.; Farias Neto, A. L.; Ribeiro, Jr., W.Q. (Orgs). Pré-melhoramento, melhoramento e pós-melhoramento: estratégias e desafios. 1. Ed. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2008. V. 1000. Pp. 3-14, 2008.

FEUILLET, K. & KELLER, B. Comparative genomics in the grass family: molecular characterization of grass genome structure and evolution. **Annals of Botany**, 89:3-10, 2002.

FRACHEBOUD, Y., RIBAUT, J.M., VARGAS, M., MESSMER, R., STAMP, P. Identification of quantitative trait loci for cold-tolerance of photosynthesis in maize (*Zea mays* L.). **J Exp Bot**, 53(376):1967-77, 2002.

FRARY, A., NESBITT, T.C., GRANDILLO, S., VAN DER KNAAP E., CONG, B., LIU, J.P., MELLER, J., ELBER, R., ALPERT, K.B., TANKSLEY, S.D. fw2.2: a quantitative trait locus key to the evolution of tomato fruit size. **Science**, 289:85-88, 2000.

FREITAS, J.G., CANTARELLA, H., SALOMON, M.V., MALAVOLTA, V.M.A., CASTRO, L.H.S.M., GALLO, P.B., AZZINI, L.E. Produtividade de cultivares de arroz irrigado resultante da aplicação de doses de nitrogênio. **Bragantia**, Campinas, v.66, n.2, p.317-325, 2007.

FRIDMAN, E.; PLEBAN, T., ZAMIR, D. A recombination hotspot delimits a wild-species quantitative trait locus for tomato sugar content to 484 bp within an invertase gene. **Proc Natl Acad Sci USA**, 97:4718-4723, 2000.

FISCHER, R.A.; MAURER, R. Drought resistance in spring wheat cultivars. I. Grain Yield responses. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.29, n.5, p.897-912, 1978.

FUKAI, S. AND M. COOPER. Development of drought resistant cultivars using physio-morphological traits in rice. **Field Crops Res.**, 40: 67-86, 1995.

GARRIS, A. J.; TAI, T.H.; COBURN, J.; KRESOVICH, S. & MCCOUCH, S. Genetic Structure and Diversity in *Oryza sativa* L. **Genetics**, v.169, n.3, p.1631-1638, 2005.

GALE, M.D. AND DEVOS, K.M. Comparative genetics in the grasses. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.** 95, 1971-1974, 1998.

GALIBA, G. I., KEREPESEI, J. W., SNAPE, J. SUTKA. Location of a gene regulating cold-induced carbohydrate production on chromosome 5A of wheat. **TAG Theoretical and Applied Genetics**, Volume 95, Numbers 1-2 265-270, 1997.

GILL, P., BRENNER, C., BRINKMANN, B., BUDOWLE, B., CARRACEDO, A., JOBLING, M.A., KNIJFF, P., KAYSER, M., KRAWESAK, M., MAYR, W.R., MORLING, N., OLAISEN, B., PASCALI, V., PRINZ, M., ROEWER, L., SCHNEIDER, P.M., SAJANTILA, A., TYLER-SMITH, C. DNA Comission of the International Society of Forensic Genetic: recommendations on forensic analysis using Y-chromosome STRs. Technical Note. **Int J Legal Med**, 114: 305-309, 2001.

GOFF et al. A Draft Sequence of the Rice Genome (*Oryza sativa* L. ssp. japonica) **Science** 296 5 92-100, 2002.

GOLDSTEIN, D.B., RUIZ LINARES, A., CAVALLI-SFORZA, L.L. AND FELDMAN, M.W. An evaluation of genetic distances for use with microsatellite loci. **Genetics** 139:463-471, 1995.

GOMEZ, S.M., KUMAR, S.S., JEYAPRAKASH, P., SURESH, R., BIJI, K.R., BOOPATHI, N.M., PRICE, A.H., BABU, C. Mapping QTLs linked to physio-morphological and plant production traits under drought estress in Rice (*Oriza sativa* L.) in the target environment. **American Journal of Biochemistry and Biotechnology**, 2 (4): 161-161, 2006.

GUIMARÃES, C.T.; SCHUSTER, I.; MAGALHÃES, J.V.; JÚNIOR, C.L.S. Marcadores Moleculares no Melhoramento de Plantas. Livro Marcadores Moleculares – Viçosa-MG. Cap IV 107-144, 2006.

HALEY, C.S. AND KNOTT, S. A. A simple regression method for mapping quantitative trait loci in line crosses using least sqsquares. **Genetics**, 136:1195-1207, 1992.

HEMANALINI, G.S., SHASHIDAR H.E., HITTALMANI, S. Molecular marker assisted tagging of morphological and physiological traits under two contrasting

moisture regimes at peak vegetative stage in rice (*Oryza sativa* L.) **Euphytica**, 112:69-78, 2000.

HIMMELBAUER, M. L., LOISKANDL, W. & KASTANEK, F. Estimating length, average diameter and surface area of roots using two different image analyses systems. **Plant and Soil**, 260: 111–120, 2004.

HONG, Z.Z., LI, S., WEI, L., WEI, C., GUO, Z.Y. A major QTL conferring cold tolerance at the early seedlings stage using recombinant inbred lines of rice (*Oryza sativa* L.). **Elsevier** Ireland Ltd, 2004.

HOISINGTON, D.; KHAIRALLAH, M.; REEVES, T.; RIBAUT, J-M.; SKOVMAND, B.; TABA, S.; WARBURTON, M. Plant genetic resources: What can they contribute toward increased crop productivity. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**. 96: 5937-5943, 1999.

IDURY & CARDON. A Simple Method for Automated allele Binning Microsatellite Markers. **Genome Research**, 11: 1104-1109, 1997.

JAIN, S. & McCOUCH, S.R. Genetic analysis of Indian aromatic and quality rice (*Oryza sativa* L.) germoplasm using panel of fluorescently- labeled microsatellite markers. **Theor Appl Genet**. 2004 Sep;109(5):965-77, 2004.

JASWAIL, P. *et al.* Gramene: a birds eye cereal genomes. *Nucleic Acids Research*, v.34, n. **Database issue**, p. D717-23, 2006.

JENA, K.K.; MACKILL, D.J. Molecular markers and their use in Marker-Assisted selection in Rice. **Crop Science**, vol. 48, p.1266-1276, 2008.

JOHANSON, U., WEST, J., LISTER, C., MICHAELSM S., AMASINO, R., DEAN, C. Molecular analysis of FRIGIDA, a major determinant of natural variation in *Arabidopsis* flowering time. **Science** 2000, 290:344-347, 2000.

KAMOSHITA, A., ZHANG, J., SIOPONGCO, J., SARKARUNG, S., NGUYEN, H.T., WADE, L.J. Effects of Phenotyping Environment on Identification of Quantitative Trait Loci for Rice Root Morphology under Anaerobic Conditions. **Crop science**, 42(1):255-265, 2002.

Kadaru, S., Zhang, W., Yadav, A., Oard, J. H. Development and application of allele-specific PCR assays for imazethapyr resistance in rice (*Oryza sativa*). **Euphytica**, 431-438, 2008.

KAO, C.H.; ZENG, Z.B.; TEASDALE, R.D. Multiple Interval Mapping for Quantitative Trait Loci. **Genetics**, v.152, n.3, p. 1203-1216, 1999.

KAW, R.N.; KHUSHI, G.S. Combining ability for low tolerance in rice. International Rice Genetics Symposium. Los Banõs: International Rice Research Institute. P. 93-612, 1986.

KAYSER, M., CAGLIÀ, A., CORACH, D., FRETWELL, N., GEHRIG, C., GRAZIOSI, G., HEIDORN, F., HERRMANN, S., HERZOG, B., HIDDING, M., HONDA, K., JOBLING, M., KRAWCZAK, M., LEIM, K., MEUSER, S., MEYER, E., OESTERREICH, W., PANDYA, A., PARSON, W., PENACINO, G., PEREZ-LEZAUN A., PICCININI, A., PRINZ, M., SCHMITT, C., SCHNEIDER, PM., SZIBOR, R., TEIFEL-GREDING, J., WEICHHOLD, G., DE KNIJFF ,P., ROEWER, L. Evaluation of Y-Chromosomal STRs: A Multicenter Study. **International Journal of Legal Medicine**, 110: 125-133; 141, 1997.

KELLER, B. AND FEUILLET, C. Colinearity and gene density in grass genomes Vol. 5, No. 6 246-251, 2000.

KELLOGG, E. A. Relationships of cereal crops and other grasses Proc. **Natl. Acad. Sci. USA** Vol. 95, pp. 2005-2010, 1998.

KHOWAJA, F.S., NORTON, N.J., COURTOIS, B., PRICE, A.H. Improved resolution in the position of drought-related QTLs in a single mapping population of rice by meta-analysis. **BMC Genomics** (in press), 2009.

KIM, K.M., SOHN, J.K., CHUNG, I.K. Analysis of OPT8511 RAPD fragments closely linked with cold sensitivity at seedling stage in rice (*Oryza sativa* L.). **Mol Cells**, 10(4):382-385, 2000.

KOLLIPARA K.P., SAAB, I.N., WYCH, R.D., LAUER, M.J., SINGLETARY, G.W. Expression profiling of reciprocal maize hybrids divergent for cold germination and desiccation tolerance. **Plant Physiology**, Vol. 129, pp. 974-992, 2002.

KOSAMBI, D. D. The estimation of map distances from recombination values. **Ann. Eugen.** V.12 p 172–175, 1944.

KU, H.M., LIU, T. V., TANKSLEY, S. D. Comparing sequenced segments of the tomato and Arabidopsis genomes: Large-scale duplication followed by selective gene loss creates a network of synteny **PNAS** 1, 2000 vol. 97 no. 16 9121-9126, 2000.

KUROKI, M., SAITO, K., MATSUBA, S., YOKOGAMI, N., SHIMIZU, H., ANDO, I., SATO, Y. Quantitative trait locus analysis for cold tolerance at the booting stage in a rice cultivar, Hatsushizuku. **JARQ** 43 (2) 115-121, 2009.

LACERDA, T. Desenvolvimento de painéis multiplex de marcadores microssatélites para programas de melhoramento assistido para qualidade de grãos em arroz (*Oryza sativa* L.) Universidade Católica de Brasília-UCB, 234 p., 2009.

LAFITTE, H.R., PRICE, A.H. AND COURTOIS, B. Yield response to water deficit in an upland rice mapping population: associations among traits and genetic markers. **Theoretical and Applied Genetics**, 109: 1237-1246, 2004.

LANDER, E.S. & SCHORK, N.J. Genetic dissection of complex traits. **Science**, 265: 2037-2048, 1994.

LANDER, E.S.; GREEN, P.; ABRAHAMSON, J.; BARLOW, A.; DALY, M.J.; LINCOLN, S.E.; NEWBURG, L. MAPMAKER: an interactive computer package for constructing primary genetic maps of experimental and natural populations. **Genomics**, vol.1, p.174-181, 1987.

LANG, N.T. & BUU, B.C. Fine mapping for drought tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) **Omonrice** 16: 9-15, 2008.

LEE, M. 1998. Genome projects and gene pools: New germplasm for plant breeding **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** Vol. 95, pp. 2001-2004, 1998.

LEVITT, J. Responses of plants to environmental stresses: Academic Press, 1972.

LI, Z. et al. QTL mapping of root traits in a doubled haploid population from a cross between upland and lowland japonica rice in the three environments. **Theoretical and Applied Genetics**, v.110, n.7, p.1244-52, 2005.

LILLEY, J.M., LUDLOW, M.M., MCCOUCH, S.R., O'TOOLE, J.C. Locating QTLs for osmotic adjustment and dehydration tolerance in rice. **J Exp Bot**, 47:1427-1436, 1996.

LIMIN, A.E., DANYLUK, J., CHAUVIN, L.P., FOWLER, D.B., SARHAN, F. Chromosome mapping of low-temperature induced Wcs120 family genes and regulation of cold-tolerance expression in wheat. **Mol Gen Genet** 27;253(6):720-728, 1997.

LIMIN, E. & FOWLER, D.B. Developmental Traits Affecting Low-temperature Tolerance Response in Near-isogenic Lines for the Vernalization Locus *Vrn-A1* in Wheat (*Triticum aestivum* L. em Thell). **Annals of Botany**, Vol.89, Number 5, pp. 579-585, 2002.

LI, Z. et al. QTL mapping of root traits in a doubled haploid population from a cross between upland and lowland japonica Rice in three environments. **Theoretical and Applied Genetics**, v.110, n.7, p.1244-52, 2005.

LIU, H.Y., ZOU, G.H., LIU, G.L., HU, S.P., LI, M.S., YU, X.Q., MEI, H.W., LUO, L.J. Correlation Analysis and QTL identification for canopy temperature, leaf water potential and spikelet fertility in rice under contrasting moisture regimes. **Chin Sci Bull**, 50:317-326, 2005.

LYNCH, M. The similarity index and DNA fingerprinting. **Molecular Biology and Evolution**, 7:478-484, 1990.

LUDLOW, M.M., MUCHOW, R.C. A critical evaluation of traits for improving crop yields in water-limited environments. **Advances in Agronomy**, San Diego, v.43, p.107-53, 1990.

MATSUO, T. Genecological studies on cultivated rice. **Buletin of the National Institute of Agricultural Sciences** (Japan), vol.3, p.1-111, 1952.

MCCOUCH, S.R., TEYTELMAN, L., XU, Y., LOBOS, K.B., CLARE, K., WALTON, M., FU, B., MAGHIRANG, R., XING, Y., ZHANG, Q., KONO, I., MASAHIRO, Y., FJELLSTROM, R., DECLERCK, G., SCHNEIDER, D., CARTINHOUR, S., WARE, D., STEIN, L. Development and mapping of 2240 New Markers for Rice (*Oryza sativa* L.) **DNA Research** 9, 199-207, 2002.

McDONALD, D.J. Temperate rice technology for 21st century: an Australian example *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 34: 877-88, 1994.

MEYERS, B.C., SCALABRIN, S., MORGANTE, M. Mapping and sequencing complex genomes: Lets get physical! **Reviews** vol.5 pp.578-588, 2004.

MOORE, G. *et al.* Grasses, line up and form a circle. **Curr. Biol.** 5: 737-739, 1995.

MORGAN, J.M., Tan, M.K. Chromosomal location of a wheat osmoregulation gene using RFLP analysis. **Aust J Plant Physiol**, 23:803-806, 1996.

MORISHIMA, H. Evolution and domestication of rice. In: International rice genetics symposium. Los Banos: International Rice Research Institute. p. 63-67, 2001.

NAKASHIMA, K. & SHINOZAKI, K.Y. Regulations involved in osmotic stress-responsive and cold stress-responsive gene expression in plants. **Physiologia Plantarum**, 126: 62-71, 2006.

NISHIYAMA, I. Climatic influence on pollen formation and fertilization. Japan scientific societies press Tokyo, Tokyo, 1984.

NORTON, G.J., AITKENHEAD, M.J., KHOWAJA, F.S., WHALLEY, W.R. AND PRICE, A.H. A bioinformatic and transcriptomic approach to identifying positional candidate genes without fine mapping; an example using rice root-growth QTLs. **Genomics**, 92: 344-352, 2008.

NORTON, G.J. AND PRICE, A.H . Mapping of quantitative trait loci for seminal root morphology and gravitropic response in rice. **Euphytica**, 166: 229-237, 2009.

OHNO, R., TAKUMI, S., NAKAMURA, C. Expression of a cold-responsive Lt-Cor gene and development of freezing tolerance during cold acclimation in wheat (*Triticum aestivum* L.). **J Exp Bot** 52(365):2367-74, 2001.

PATERSON, A.H. Molecular Dissection of Quantitative Traits: Progress and Prospects. **Genome Research**, 5:321-333, 2009.

PELEMAN, J.D. & VOORT, J.R. The Challenges in Marker Assisted Breeding. **Eucarpia Leafy Vegetables**, 125-130 p, 2003.

PEREIRA, J.A. Cultura do arroz no Brasil – subsídios para a sua história: Embrapa – Meio Norte. Documentos, Teresina – PI, 1999.

PESSOA-FILHO, M.; BELO, A.; ALCOCHETE, A.; HIDEO, P. N.R.; FERREIRA, M. E. A set of multiplex panel of microsatellite markers for rapid molecular characterization of rice accessions. **BMC Plant Biology**. 1-10 **7**:23doi:10.1186/1471-2229-7-23, 2007.

PRICE, A.H. Believe it or not, QTLs are accurate. **Trends in Plant Science**, 11: 213-216, 2006.

PRICE, A. H. J. TOWEND, M. P. JONES, A. AUDEBERT, B. Mapping QTLs associated with drought avoidance in upland rice grown in the Philippines and West Africa. **Plant Mol Biol**, 48:683-695, 2002.

PRIOUL, J.L., QUARRIE, S.A., CAUSSE, M., DE VIENNE, D. Dissecting complex physiological functions through the use of molecular quantitative genetics. **J Exp Bot**, 48:1151-1163, 1997.

PRITCHARD, J.K., ROSENBERG, N.A. Use of unlinked genetic markers to detect population stratification in association studies. **Am J Hum Genet**, 65:220-228, 1999.

PRITCHARD, J.K., STEPHENS, M., ROSENBERG, N.A. & DONNELLY, P. Association mapping in structured populations. **Am. J. Hum. Genet.** 67, 170-181, 2000.

QUARRIE, S.A., GULLI, M., CALESTANI, C., STEED, A., MARMIROLI, N. Location of a gene regulating drought-induced abscisic acid production on the long arm of chromosome 5 A of wheat. **Theor Appl Genet**, 89:794-800, 1994.

QU, Y. et al. Mapping QTLs of root morphological traits at different growth stages in rice. **Genetica**, v.133, n.2, p.187-200, 2008.

RAGHAVAN, V. Anther and Pollen Development in Rice (*Oryza sativa*). **America Journal of Botany**. Vol. 75, N. 2, p. 183-196, 1988.

REMINGTON, D.L., THORNSBERRY J. M., MATSUOKA, Y., WILSON, L. M., WHITT, S. R., DOEBLEY, J., KRESOVICH, S., GOODMAN, M.M., BUCKLER, E. S. IV. Structure of linkage disequilibrium and phenotypic associations in the maize genome PNAS 98 (20): 11479-11484, 2001.

RISCH, N. & TENG, J. The relative power of family-based and case-control designs for association studies of complex human diseases. I. DNA pooling. **Genome Res.** 8, 1273-1288, 1998.

RISCH, N.J. Searching for genetic determinants in the new millennium. **Nature**, 405 15:847-856, 2000.

ROSSO, A. F. Caracterização genética e fenotípica para tolerância ao frio e características agronômicas em arroz irrigado. Tese de Doutorado – UFRGS, 2006.

SATAKE, T. AND HAYASE, H. Male sterility caused by cooling treatment at the young microspore stage in rice plants. V. Estimation of pollen developmental stage and the most sensitive stage to coolness. **Proc. Crop Sci. Soc. Japan.** 39: 468-473, 1970.

SATAKE, T., TORIYAMA, K. Temperature tolerance. **IRRN** 4:2, p.9-10, 1979.

SAITO, K, MIURA, K., HAYANO-SAITO, Y., KATO, A. Analysis of Quantitative Trait Loci for Cold Tolerance at the Booting Stage of Rice. **JARQ**, 37(1), 1-5, 2003.

SAITO,K, MIURA, K., HAYANO-SAITO, Y.; MARUYAMA-FUNATSUKI; W., SATO, Y.; KATO, A. Physical mapping and putative candidate gene identification of a quantitative trait locus Ctb1 for cold tolerance at the booting stage of rice. **Theoretical and Applied Genetics**, Volume 109, p. 515-522, 2004.

SAITO,K, MIURA, KIYOYUKI, M.; HAYANO-SAITO, Y., KATO, A. Analysis of quantitative trait loci for cold tolerance at the booting stage of rice. **JARQ**, 37(1), 1-5 <http://www.jircas.affrc.go.jp>, 2003.

SAITO, K., MIURA, K., NAGANO, K., HAYANO-SAITO, Y., ARAKI, H., KATO, A. Identification of two closely linked quantitative trait loci for cold tolerance on chromosome 4 of rice and their association with anther length. **TAG Theoretical and Applied Genetics**, Volume 103, Numbers 6-7 862-868, 2001.

SĂULESCU, N.N. & BRAUN, H.-J. Breeding for adaptation to environmental factors. Cold tolerance. *In* M.P. Reynolds, J.I. Ortiz-Monasterio & A. McNab, eds. Application of physiology in wheat breeding, p. 111-123. Mexico, DF, CIMMYT, 2001.

SCHOSKE, R., VALLONE, P.M., KLINE, M.C., REDMAN, J.W., BUTLER, J.M. High-throughput Y-STR typing of U.S. populations with 27 regions of the chromosome using two multiplex PCR assays, **Forensic Sci. Int.** 139, 107-121, 2004.

SEAL, A.N., PRATLEY, J., HAIG, T. Evaluation of rice varieties for allelopathic effects on Australian rice weeds – linking laboratory to field. Fourth World Congress on Allelopathy – Australia, 2005.

SHIFMAN, S., BRONSTEIN, M., STERNFELD, M., PISANTE´-SHALOM, A., LEV-LEHMAN, E., WEIZMAN, A., REZNIK, I., SPIVAK, B., GRISARU, N., KARP, L., SCHIFFER, R., KOTLER, M., STROUS, R. D., SWARTZ-VANETIK, M., KNOBLER, H. Y. SHINAR, E., BECKMANN, J. S., YAKIR, B., RISCH, N., ZAK, N. B., DARVAS, A. A Highly Significant Association between a COMT Haplotype and Schizophrenia *Am. J. Hum. Genet.* 71:000-000, 2002.

SIK OH, C., STUBER, C.W., POLACCO, M., SENIOR, M. L. Synergy of Empirical Breeding, Marker-Assisted Selection, and Genomics to Increase Crop Yield Potential. **Crop Sci.** 39:1571-1583, 1999.

STEELE, K.A., PRICE, A.H., SHASHIDHAR, H.E. AND WITCOMBE, J.R. Marker-assisted selection to introgress rice QTLs controlling root traits into an Indian upland rice variety. **Theoretical and Applied Genetics**, 112: 208-221, 2006.

SUH, J.P. QTL analysis of low temperature germinability in a Korean weedy rice (*Oryza sativa* L.) In: Sano, Y. et al (Coords) Rice Genetics Newsletter. Japan: **Rice Genetics Cooperative**. p.53-55, 1999.

SURYAPRIYA, P., SNEHALATHA, A., KAYALVILI, U., KRISHNA, R., SINGH, S., ULAGANATHAN, K. Genome-wide analyses of rice root development QTLs end development of an online resource, Rootbrowse. **Bioinformatics**, 3 (6): 279-281, 2009.

TANKSLEY, S.D.; GANAL, M. W. AND MARTIN, G.B. Chromosome landing: a paradigm for map-based gene cloning in plants with large genomes. **Trends in Genetics**, 11(2):63-68, 1995.

TANKSLEY, S.D., YOUNG, N.D., PATERSON, A.H., BONIERBALE, M.W. RFLP mapping in plant breeding: New tools for an old science. **Biotechnology**, 7: 257–264, 1989.

TANKSLEY, S.D.; MCCOUCH, S.; CAUSSE, M.; FULTON, T. Molecular mapping of the Rice Genome: Recent Advances. In: G.S. Krush and G.H. Toenniessen (eds.) Rice Biotechnology, 1991.

TENAILLON, M.I., SAWKINS, M. C., LONG, A. D., GAUT, R. L., DOEBLEY, J. F., GAUT, B.S. Patterns of DNA sequence polymorphism along chromosome 1 of maize (*Zea mays* ssp. *Mays* L.) 2001 **PNAS**, vol. 98 no. 16 9161-9166, 2001.

TEULAT, B., THIS, D., KHAIRALLAH, M., BORRIES, C., RAGOT, C., SOURDILLE, P., LEROY, P., MONNEVEUX, P., CHARRIER, A. Several QTLs involved in osmotic-adjustment trait variation in barley (*Hordeum vulgare* L.). **Theor Appl Genet**, 96:688-698, 1998.

THORNSBERRY, J., GOODMAN, M. M., DOEBLEY, J., KRESOVICH, S., NIELSEN, D. & BUCKLER, E.S. IV. Dwarf8 polymorphisms associate with variation in flowering time. **Nature Genetics**, 28: 286-289, 2001.

TRIPATHY, J.N.; ZHANG, S.; NGUYEN, R.; NGUYEN, H.T. QTL for cell membrane stability mapped in rice (*Oryza sativa* L.) under drought stress. **Theor. Appl. Genet.** 100: 1197-1202, 2000.

UEMURA, M.; TOMINAGA, Y.; NAKAGAWARA, C.; SHIGEMATSU, S.; MINAMI, A.; KAWAMURA, Y. Responses of the plasma membrane to low temperatures. **Physiologia Plantarum**, 126:81-89, 2006.

VÁGÚJFALVI, G. GALIBA, J. DUBCOVSKY, L., CATTIVELLI. Two loci on wheat chromosome 5A regulate the differential cold-dependent expression of the cor14b gene in frost-tolerant and frost-sensitive genotypes. **Molecular Genetics and Genomics**, (formerly Molecular and General Genetics MGG), Volume 263, Number 2 pp. 0194-0200, 2000.

VALLONE, P. Multiplexed Assays for Probing Y Chromosome and Mitochondrial Markers. www.cstl.nist.gov/strbase/pub_pres/ValloneISFG2003, 2002.

WATANABE, Y. Genomic constitution of Genus *Oryza* . In: Futsuhara, Y.; Kikuchi, F.; Yamaguchi, H. (Ed.) Science of the rice plant. Tokyo: Food and Agriculture Policy Research Center. V.3, p. 29-68, 1997.

WEI, JUN-ZHI. CHATTERTON, N. J., LARSON, S. R., WANG, R. Linkage mapping and nucleotide polymorphisms of the 6-SFT gene of cool-season grasses. **Genome**, Volume 43, pp. 931-938, 2000.

WEIR, B.S. Genetic Data Analysis II. Sinauer Associates, Massachusetts, 445p, 1996.

WILLIAMS, R.L. & WENSING, A. Varietal response to mid-season cold damage in Australian rice. The Australian Society of Agronomy, 1997.

WISNIEWSKI, K., ZAGDANSKA, B., PRONCZUK, M. Interrelationship between frost tolerance, drought and resistance to snow mould (*Microdochium nivale*). *Acta Agronomica Hungarica* 45(3): 311-316, 1997.

XU, Y.; MCCOUCH, S.; ZHANG, QIFA. How can we use genomics to improve cereals with rice as a reference genome? **Plant Molecular Biology**, 59:7-26, 2005.

XU, L.M., ZHOU, L., ZENG, Y.W., WANG, F.M., ZHANG, H.L., SHEN, S.Q., LI, Z.C. Identification and mapping of quantitative trait loci for cold tolerance at the booting stage in a japonica rice near-isogenic line. **Plant Science**, 174 340-347, 2008.

YOSHIDA, S. Fundamentals of rice crop science. Los Banos. International rice research Institute. Cap. I, Growth and development of the rice plant. P. 1-63, 1981.

YOUNG, N.D. A cautiously optimistic vision for marker-assisted breeding *Molecular Breeding* 5: 505-510, 1999.

YU, J. *et al.* A Draft Sequence of the Rice Genome (*Oryza sativa* L. ssp. indica) **Science** 296 5 79-92, 2002.

YUE, B.; XUE, W.; XIONG, L.; YU, X.; LUO, L.; CUI, K.; JIN, D.; XING, Y.; ZHANG, Q. Genetic Basis of Drought Resistance at Reproductive Stage in Rice: Separation of Drought Tolerance From Drought Avoidance. **Genetics**, 172: 1213-1228, 2006.

ZHANG, J., ZHENG, H.G., AARTI, A., PANTUWAN, G., NGUYEN, T.T., TRIPATHY, J.N., SARIAL, A.K., ROBIN, S., BABU, R.C., NGUYEN, B.D., SARKARUNG, S., BLUM, A., NGUYEN, H.T. Location genomic regions associated with components of drought resistance in rice: comparative mapping within and across species. **Theor Appl Genet**, 103:19-29, 2001.

ZHANG, Z.H., QU, X.S., WAN, S., CHEN, L.H., ZHU, Y.G. Comparison of QTL controlling seedling vigour under different temperature conditions using recombinant lines in rice (*Oryza sativa* L.), 2005.

ZHANG, Z.H., SU, L., LI, W., CHEN, W., ZHU, Y.G. A major QTL conferring cold tolerance at the early seedling stage using recombinant inbred lines of rice (*Oryza sativa* L.). **Plant Science**, 168: 527–534, 2005.

ZIEGLE, J.S., SU, Y., CORCORAN, K.P., NIE, L., MAYNARD, P.E., OF, L.B., MCBRIDE, L.J., KRONICK, M.N., DIEHL, S.R. Application of automated DNA sizing technology for genotyping microsatellite loci. **Genomics**, 14:1026-1031, 1992.

ANEXOS

ANEXO 1. PLANILHA DE GENOTIPAGEM DE 28 ACESSOS DO BANCO DE GERMOPLASMA

Loco	Fluorescencia	Cr	Motivo	Ta°C	Modelo seq	Mapafísico (pb)	pb esp	5287A	Amaroo	BG902	BicoGanga	C101A51A	Chorinho	CNA8198	CNA8212	CNA8502	CNAi9022
RM495	6fam	1	CTG	55	ABI3700	216000	159	158/158	158/158	158/158	158/158	146/146	158/158	146/146	146/146	146/146	146/146
RM3252	ned	1	CT	55	ABI3700	301947	172	173/173	171/171	169/169	171/171	225/225	165/171	161/161	155/161	225/225	227/227
RM7536	6fam	1	TATG	50	ABI3700	1667714	102	102/102	98/98	-/-	98/98	98/98	98/98	98/98	98/98	98/98	98/98
RM7278	hex	1	ATCT	55	ABI3700	1793925	175	234/234	166/166	194/194	234/234	194/194	166/166	-/-	150/150	194/194	194/194
RM3740	6fam	1	GA	50	ABI3700	2800091	135	123/123	123/123	121/121	119/119	121/121	-/-	119/119	119/119	119/119	121/121
RM7383	6fam	1	GAAG	55	ABI3700	3483480	176	158/158	174/174	170/170	-/-	170/170	174/174	-/-	174/174	170/174	170/170
RM220	ned	1	CT	55	ABI3700	4424458	127	105/105	121/121	119/119	105/105	119/119	105/105	105/105	105/105	119/119	119/119
RM1	ned	1	AG	55	ABI3700	4633595	113	88/88	86/86	110/110	-/-	-/-	92/92	88/88	88/88	106/106	104/104
RM283	ned	1	GA	55	ABI3700	4885944	151	147/147	155/155	151/151	147/147	151/151	147/147	147/147	147/147	151/151	151/151
RM7086	ned	1	AGAC	55	ABI3700	6192761	140	158/158	158/158	158/158	126/126	146/146	-/-	146/146	146/146	146/146	146/146
RM5359	hex	1	TC	50	ABI3700	7178539	198	191/191	199/199	193/197	191/191	193/193	191/191	191/191	191/191	193/193	191/191
RM259	ned	1	CT	55	ABI3700	7443429	152172	160/160	168/168	156/156	170/170	-/-	170/170	162/162	162/162	156/156	156/156
RM3412	6fam	1	CT	55	ABI3700	11566961	211	213/213	209/209	211/211	207/207	225/225	213/213	207/207	207/207	211/211	211/211
RM7075	hex	1	ACAT	50	ABI3700	15101795	155	147/147	103/103	135/135	147/147	123/123	159/159	151/151	151/151	103/103	147/147
RM24	hex	1	GA	55	ABI3700	18973726	152198	185/185	185/185	185/185	185/185	185/185	185/185	185/185	185/185	185/185	185/185
RM5638	ned	1	AAG	55	ABI3700	20932038	203	201/201	198/198	231/231	201/255	231/231	207/207	102/201	102/207	237/237	207/237
RM7405	ned	1	GATG	55	ABI3700	21899261	109	-/-	109/109	93/93	109/109	93/93	-/-	109/109	109/109	93/93	109/109
RM9	ned	1	(GA)GT(GA)	55	ABI3700	23322266	124194	185/185	181/181	131/131	185/185	131/131	185/185	191/191	191/191	131/131	181/181
RM5	ned	1	GA	55	ABI3700	23968577	96130	114/114	112/112	110/110	114/114	112/112	114/114	114/114	114/114	104/104	114/114
RM7124	6fam	1	ATAA	55	ABI3700	24386986	167	154/162	162/170	154/154	154/162	146/154	154/162	-/-	154/162	146/154	154/162
RM7266	hex	1	ATCT	55	ABI3700	24446309	206	174/178	206/206	178/178	170/178	174/178	178/178	174/178	174/178	174/178	174/178
RM5919	6fam	1	ATT	61	ABI3700	24732675	237	240/240	234/234	144/144	243/243	249/249	240/240	243/243	240/240	-/-	246/246
RM7202	6fam	1	ATAG	50	ABI3700	26197344	157	150/150	154/154	150/150	150/150	150/150	150/150	150/150	150/150	150/150	150/150
RM246	ned	1	CT	55	ABI3700	27663069	92116	109/109	113/113	93/93	109/109	95/95	107/107	107/107	107/107	93/115	115/115

RM145(OSR9)	hex	2	GA	67	ABI3700	7706071	215	163/163	163/163	171/171	163/163	167/167	163/163	165/165	171/171	167/171	-/-
RM71	hex	2	(ATT)T(ATT)	55	ABI3700	8760433	125	123/123	123/123	138/138	123/123	138/138	123/123	123/123	123/123	147/147	138/138
RM7288	hex	2	ATCT	55	ABI3700	9032703	146	144/144	144/144	140/140	144/144	140/140	144/144	144/144	144/144	140/140	140/140
RM7501	ned	2	TATC	50	ABI3700	9243319	152	88/92	88/92	96/96	88/92	102/102	88/92	88/92	88/92	-/-	-/-
RM452	6fam	2	GTC	55	ABI3700	9562527	209	207/207	207/207	204/204	207/207	204/204	207/207	-/-	207/207	204/204	204/204
RM290	6fam	2	GA	55	ABI3700	10806307	172	172/172	172/172	140/140	172/172	170/170	172/172	172/172	172/172	178/178	140/178
RM300	ned	2	GTT	55	ABI3700	13190528	168	163/163	163/163	124/124	166/166	127/127	166/166	166/166	166/166	124/124	124/124
RM7624	ned	2	TTAA	50	ABI3700	21006250	133	181/181	-/-	-/-	181/181	181/181	181/181	181/181	181/181	181/181	181/181
RM7205	6fam	2	ATAG	50	ABI3700	23526119	177	173/173	173/173	173/173	173/173	173/173	181/181	181/181	181/181	173/173	209/209
RM263	6fam	2	CT	55	ABI3700	25865334	160	159/159	155/155	155/155	-/-	-/-	153/153	153/153	153/153	155/155	181/181
RM7511	ned	2	TATC	55	ABI3700	26626712	194	218/218	186/186	182/182	246/246	198/198	182/182	182/182	182/182	206/206	190/202
RM6535	hex	2	GCG	55	ABI3700	31164313	132	129/144	129/129	129/129	129/129	129/129	129/129	129/129	129/144	129/129	129/129
RM240	hex	2	CT	55	ABI3700	31497147	131157	108/108	108/108	132/132	110/110	132/132	108/108	108/108	134/134	110/110	132/132
RM7307	hex	2	ATTC	55	ABI3700	32871280	100	-/-	98/110	102/102	98/98	102/102	-/-	98/98	102/102	102/102	102/102
RM7286	hex	2	ATCT	55	ABI3700	33019042	133	121/121	125/125	81/81	-/-	81/81	145/145	117/117	81/81	81/81	81/81
RM3774	hex	2	GA	55	ABI3700	34462909	156	144/144	144/144	152/152	144/144	144/144	144/144	144/144	144/144	156/156	152/152
RM208	hex	2	CT	55	ABI3700	35160202	158180	119/119	117/117	127/131	119/119	123/123	117/117	119/119	119/119	129/129	-/-
RM498	ned	2	CA	55	ABI3700	35391758	213	210/210	210/210	218/218	210/210	218/218	210/210	210/210	202/210	218/218	218/218
RM207	hex	2	CT	55	ABI3700	35393930	118	119/119	117/117	129/129	-/-	123/123	117/117	119/119	119/119	129/129	129/129
RM6923	6fam	2	TTA	50	ABI3700	35718230	161	157/157	157/157	157/157	157/157	157/157	157/157	157/157	157/157	157/157	157/157
OG63	hex	2	(TCA)(TC)ATGA (CA)TG(GA)	56	ABI3700	NA	110	-/-	109/109	121/121	107/107	123/123	109/109	109/109	-/-	121/121	123/123
OG87	6fam	2	AG	56	ABI3700	NA	184190	109/109	109/109	121/121	109/109	123/123	109/109	109/109	109/109	121/121	123/123
OSR14	6fam	2	GA	55	ABI3700	NA	218222	203/203	199/199	185/203	-/-	203/203	201/201	181/201	201/201	201/201	205/205
RM211	hex	2	(TC)A(TC)	55	ABI3700	NA	140	140/140	140/140	140/140	140/140	150/150	140/140	140/160	150/150	140/140	150/150
RM27	hex	2	GA	55	ABI3700	NA	158	152/152	152/152	156/156	152/152	156/156	152/152	152/152	152/152	158/158	-/-
RM29	hex	2	GA	55	ABI377	NA	188200	203/203	203/203	191/191	203/203	191/191	203/203	203/203	-/-	203/203	191/191
RM327	hex	2	(CAT)(CTT)	55	ABI3700	NA	220	217/217	217/217	208/208	217/217	208/208	217/217	217/217	217/217	217/217	217/217
RM341	6fam	2	CTT	55	ABI3700	NA	135	143/143	140/140	170/170	134/134	170/170	134/134	134/134	134/134	134/134	134/134
RM475	ned	2	TATC	55	ABI3700	NA	235	199/199	199/199	195/195	199/199	183/183	199/199	199/199	199/199	183/183	235/235

RM231	hex	3	CT	55	ABI3700	NA	162188	180/180	190/190	184/184	180/180	192/192	180/182	182/182	182/182	184/184	168/168
RM232	hex	3	CT	55	ABI3700	NA	142166	161/161	157/157	147/147	157/157	157/157	157/157	143/143	143/143	141/141	157/157
RM55	hex	3	GA	55	ABI3700	NA	217235	230/230	234/234	226/226	232/232	-/-	232/232	232/232	232/232	216/216	234/234
RM7	ned	3	GA	55	ABI3700	NA	168182	167/173	169/175	163/169	167/173	181/181	173/173	173/173	167/173	167/167	181/181
RM7585	6fam	4	TCTT	50	ABI3700	219842	157	145/145	145/145	149/149	145/145	149/149	145/145	145/145	145/145	149/149	149/149
RM335	6fam	4	CTT	55	ABI3700	679893	112	145/145	142/142	148/148	139/139	-/-	157/157	160/160	-/-	148/148	115/115
RM5414	6fam	4	TC	55	ABI3700	2021760	116	105/105	97/97	105/105	109/109	105/105	109/109	109/109	109/109	105/105	105/105
RM7200	6fam	4	ATAG	55	ABI3700	4019299	174	177/177	193/193	173/173	161/161	153/153	177/177	177/177	177/177	177/177	153/153
RM261	hex	4	C(CT)	55	ABI3700	6558964	105125	121/121	121/121	129/129	121/121	123/123	121/121	121/121	-/-	129/129	123/123
RM7472	ned	4	TAGA	50	ABI3700	7057445	112	75/75	107/107	-/-	-/-	-/-	103/103	119/119	-/-	-/-	-/-
RM7279	hex	4	ATCT	55	ABI3700	13825526	201	204/204	216/216	180/180	200/200	184/184	212/212	204/204	-/-	184/184	184/184
RM7181	hex	4	ATAG	55	ABI3700	15439751	144	142/142	142/142	142/142	142/142	142/142	142/142	142/142	142/142	142/142	142/142
RM7290	hex	4	ATGG	50	ABI3700	15709786	148	143/143	143/143	143/143	143/143	151/151	143/143	143/143	-/-	143/143	155/155
RM5687	ned	4	AAT	50	ABI3700	15927814	158	154/154	193/193	193/193	178/178	-/-	178/178	190/190	-/-	-/-	169/169
RM7113	6fam	4	AGAT	50	ABI3700	18340226	213	156/156	224/224	156/156	220/220	156/224	220/220	220/220	220/220	256/256	220/220
RM6314	ned	4	CTT	50	ABI3700	18627879	169	171/171	168/168	141/141	-/-	-/-	171/171	171/171	168/168	141/141	168/168
RM185	6fam	4	AGG	61	ABI3700	18762727	197	194/194	194/194	191/191	194/194	191/191	194/194	194/194	194/194	191/191	194/194
RM5951	hex	4	CAC	55	ABI3700	19965149	92	87/87	87/87	87/87	-/-	87/87	87/87	-/-	87/87	87/87	87/87
RM119	hex	4	GTC	67	ABI3700	21227137	166	165/165	165/165	171/171	165/165	168/168	165/165	165/165	171/171	171/171	168/168
RM3337	ned	4	CT	50	ABI3700	21913014	125	123/123	123/123	123/123	123/123	123/123	123/123	123/123	125/125	117/117	123/123
RM252	hex	4	CT	55	ABI3700	25337620	192	194/194	196/196	250/250	194/194	206/206	194/194	194/194	194/194	218/218	216/216
RM7210	6fam	4	ATAG	50	ABI3700	28613261	158	-/-	156/156	80/128	180/180	128/128	176/176	176/176	180/180	128/128	80/80
RM7208	6fam	4	ATAG	50	ABI3700	30175734	180	187/187	179/179	127/127	183/183	131/131	183/183	183/183	183/183	183/183	-/-
RM349	6fam	4	GA	55	ABI3700	32718532	136	135/135	127/127	129/129	145/145	131/131	129/129	129/129	129/129	131/131	129/129
RM348	hex	4	CAG	55	ABI3700	32869438	136	133/133	139/139	130/130	139/139	130/130	130/130	130/130	130/130	130/130	130/130
RM7410	hex	4	GCAC	50	ABI3700	34076091	145	120/120	120/120	88/88	120/120	120/120	120/120	120/120	120/120	140/140	120/120
RM567	6fam	4	GA	55	ABI3700	34499760	261	251/251	253/253	243/243	249/249	243/243	251/251	251/251	251/251	243/243	243/243
RM7474	hex	4	TAGA	50	ABI3700	34539185	121	107/107	115/115	-/-	107/107	119/119	-/-	-/-	-/-	115/115	-/-
RM124	6fam	4	TC	67	ABI3700	34960080	271	166/166	-/-	166/166	-/-	166/166	-/-	-/-	176/176	-/-	166/166

RM7653	ned	5	TTTC	50	ABI3700	27202292	121	104/104	120/120	120/120	104/104	120/120	120/120	120/120	120/120	120/120	120/120
RM26	ned	5	GA	55	ABI377	27321395	104	104/104	104/104	114/114	104/104	114/114	104/110	110/110	110/110	104/114	110/110
RM7423	6fam	5	GGAT	55	ABI3700	27828955	204	199/199	203/203	199/199	199/199	199/199	199/199	199/199	199/199	199/199	199/199
RM31	ned	5	GA	55	ABI3700	28453105	140164	140/140	148/148	138/138	140/140	138/138	146/146	146/146	146/146	138/138	138/138
OG32	ned	5	AG	56	ABI3700	NA	236	234/234	234/234	224/224	234/234	224/224	230/230	230/230	228/228	224/224	-/-
OG47	6fam	5	(TC)C(TC)(TGTC)	56	ABI3700	NA	190	201/201	201/201	201/201	201/201	201/201	201/201	201/201	201/201	201/201	201/201
OG61	6fam	5	AG	56	ABI3700	NA	96154	107/107	97/97	135/135	107/107	137/137	143/143	145/145	145/145	137/137	145/145
OG72	hex	5	AG	50	ABI3700	NA	128	128/128	116/116	118/118	120/120	142/142	122/122	142/142	142/142	118/118	116/116
OG92	ned	5	AG	56	ABI3700	NA	101	-/-	103/103	115/115	103/103	125/125	105/105	103/103	-/-	115/115	105/105
RM13	ned	5	(GA)(GA)	55	ABI3700	NA	131151	160/160	126/126	152/152	-/-	140/140	128/128	126/126	128/128	152/152	128/128
RM161	ned	5	AG	61	ABI3700	NA	187	179/179	-/-	179/179	179/179	179/179	179/179	179/179	179/179	179/179	179/179
RM334	6fam	5	CTT	55	ABI3700	NA	148	152/152	152/152	143/143	152/152	164/164	152/152	152/152	152/152	155/155	-/-
RM7158	6fam	6	ATAC	50	ABI3700	216356	197	195/195	195/195	171/171	195/195	167/167	191/191	191/191	191/191	-/-	167/167
RM7399	6fam	6	GATC	50	ABI3700	1047728	179	177/177	177/177	173/173	177/177	173/173	177/177	177/177	177/177	177/177	-/-
OSR19	hex	6	CT	56	ABI3700	1764586	194	109/109	109/109	119/119	109/109	123/123	109/109	109/109	109/109	121/121	123/123
RM510	6fam	6	GA	55	ABI3700	2831543	122	118/118	120/120	110/110	-/-	110/110	-/-	122/122	120/120	110/110	108/108
RM204	ned	6	CT	55	ABI3700	3168425	104194	169/169	171/171	103/103	141/141	111/111	141/141	141/141	171/171	105/105	113/113
RM225	ned	6	CT	55	ABI3700	3416638	122142	132/132	132/132	142/142	142/142	122/122	142/142	142/142	132/132	142/142	124/124
RM6119	ned	6	CGC	50	ABI3700	4439561	188	188/188	179/179	128/128	182/182	-/-	182/182	-/-	-/-	128/128	128/128
RM3370	ned	6	CT	55	ABI3700	6640896	137	147/147	139/139	139/139	127/127	135/135	-/-	-/-	139/139	133/141	133/133
RM7023	6fam	6	AAAG	55	ABI3700	6971160	180	169/169	177/177	169/169	177/177	169/169	177/177	177/177	177/177	173/173	169/169
RM7213	6fam	6	ATAG	55	ABI3700	10448510	211	210/210	214/214	206/222	218/218	186/186	230/230	214/214	186/186	186/210	214/214
RM3330	6fam	6	CT	50	ABI3700	10907997	145	128/128	116/116	118/118	120/120	144/144	122/122	-/-	142/142	118/118	116/116
RM7583	hex	6	TCTT	55	ABI3700	12293342	160	133/133	-/-	136/136	133/136	133/136	133/136	136/136	136/136	136/136	136/136
RM7551	ned	6	TATT	50	ABI3700	20601481	150	150/150	150/150	150/150	150/150	150/150	-/-	150/150	150/150	150/150	150/150
RM7579	6fam	6	TCTG	55	ABI3700	23119353	118	116/116	116/116	116/116	116/116	116/116	116/116	116/116	116/116	116/116	116/116
RM7269	hex	6	ATCT	55	ABI3700	23295433	142	155/155	143/143	135/135	155/155	143/143	147/147	155/155	143/143	-/-	143/143
RM7434	ned	6	GTAT	50	ABI377	23552227	143	119/123	139/139	143/143	123/123	119/119	123/123	123/123	119/119	119/119	119/119
RM162(OSR18)	ned	6	AC	61	ABI3700	23652879	229	203/203	227/227	209/209	203/203	209/209	203/203	203/203	209/209	209/209	209/209

RM5957	6fam	6	CAG	55	ABI3700	24138891	90	184/184	184/184	184/184	184/184	184/184	184/184	184/184	184/184	184/184	184/184
RM7329	hex	6	CATA	50	ABI3700	25104452	234	188/188	164/164	180/180	164/164	-/-	164/164	164/164	164/164	200/200	-/-
RM7309	ned	6	ATTT	55	ABI3700	25914707	154	152/152	152/152	148/148	-/-	152/152	152/152	152/152	152/152	-/-	148/148
RM3(RM30)	ned	6	(AG)A(GA)	55	ABI3700	26869678	118148	82/82	82/82	104/104	82/82	104/104	82/82	82/82	80/80	98/98	104/104
RM30	ned	6	(AG)A(GA)	55	ABI3700	27252300	82106	134/134	104/104	104/104	134/134	104/104	134/134	134/134	134/134	98/98	104/104
RM7555	ned	6	TATT	50	ABI3700	29569773	141	111/111	115/115	75/75	111/111	75/75	111/111	111/111	111/111	75/75	75/75
RM412	hex	6	GA	55	ABI3700	30327854	198	186/186	198/198	172/186	186/186	186/186	186/186	172/186	-/-	186/186	186/186
RM345	6fam	6	CTT	55	ABI3700	30864845	153	167/167	155/155	167/167	167/167	167/167	167/167	167/167	167/167	167/167	167/167
RM103	hex	6	GAA	55	ABI3700	30889200	336	260/260	260/260	260/260	260/260	260/260	260/260	260/260	-/-	-/-	260/260
RM133	6fam	6	CT	61	ABI3700	NA	230	227/227	227/227	-/-	227/227	225/225	227/227	227/227	227/227	225/225	233/233
RM217	6fam	6	CT	55	ABI3700	NA	120166	142/142	142/142	142/142	142/142	142/142	142/142	142/142	142/142	142/142	142/142
RM454	hex	6	GCT	55	ABI3700	NA	268	155/266	266/266	269/269	266/266	269/269	266/266	182/182	269/269	269/269	269/269
RM7454	6fam	7	TACA	55	ABI3700	1102352	99	95/95	-/-	103/103	95/95	103/103	95/95	95/95	-/-	95/95	103/103
RM7012	ned	7	AAAG	50	ABI3700	2557838	89	86/86	86/86	86/86	86/86	86/86	86/86	86/86	86/86	86/86	86/86
RM5055	hex	7	TA	55	ABI3700	2682247	162	136/136	142/142	102/102	130/130	102/102	132/132	130/130	102/102	102/102	102/102
RM7418	hex	7	GCTT	61	ABI377	3220950	88	-/-	78/78	78/78	-/-	78/78	-/-	-/-	-/-	78/78	-/-
RM1243	hex	7	AG	50	ABI3700	3587869	157	180/180	156/156	142/142	188/188	142/142	186/186	190/190	142/142	142/142	142/142
RM7479	6fam	7	TATC	55	ABI3700	4167769	216	173/173	-/-	157/157	173/173	157/157	165/173	165/165	-/-	157/157	197/197
RM180	hex	7	ATT	55	ABI3700	5768455	110	105/105	108/108	186/186	108/108	108/108	108/108	108/108	108/108	108/108	108/108
RM7161	6fam	7	ATAC	50	ABI3700	5929101	197	-/-	196/196	200/200	188/188	200/200	188/188	188/188	188/188	-/-	200/200
RM1253	hex	7	AG	50	ABI3700	7001046	175	166/166	166/166	162/162	166/166	-/-	166/166	166/166	166/166	162/162	162/162
RM7153	6fam	7	ATAC	55	ABI3700	8640652	154	152/152	152/152	140/140	152/152	140/140	152/152	152/152	152/152	140/140	140/140
RM7074	6fam	7	ACAT	61	ABI3700	9010076	168	-/-	157/157	-/-	161/161	-/-	161/161	157/157	-/-	-/-	-/-
RM214	hex	7	CT	55	ABI3700	12782791	108150	152/152	142/142	112/112	122/122	136/136	122/122	152/152	122/122	112/112	112/112
RM7273	hex	7	ATCT	55	ABI3700	13377137	155	153/153	153/153	185/185	153/153	-/-	153/153	153/153	153/153	185/185	185/185
RM7338	hex	7	CATC	55	ABI3700	15335246	164	144/144	164/164	160/160	144/144	160/160	144/144	144/144	144/144	160/160	160/160
RM500	hex	7	AAG	55	ABI3700	15858082	259	253/253	253/253	250/250	256/256	250/250	256/256	253/253	256/256	253/253	241/250
ARM7110	6fam	7	AGAT	50	ABI3700	16800718	153	150/150	146/146	166/166	138/138	158/158	138/138	150/150	138/138	166/166	166/166
RM7110	6fam	7	AGAT	55	ABI3700	16800718	176	175/175	171/171	191/191	163/163	183/183	163/163	175/175	163/163	191/191	183/183

RM1135	6fam	7	AG	55	ABI3700	16879457	148	145/145	145/145	139/139	145/145	139/139	145/145	145/145	145/145	139/139	139/139	
RM445	hex	7	AG	55	ABI3700	17409772	251	244/244	248/248	258/258	250/250	246/246	250/250	250/250	250/250	256/256	246/246	
RM533	ned	7	CT	55	ABI3700	17459607	257	256/256	254/254	248/256	-/-	256/256	254/254	258/258	256/256	248/248	260/260	
RM418	6fam	7	ATT	55	ABI3700	18131530	283	294/294	276/276	294/294	288/288	285/285	294/294	291/291	294/294	294/294	309/309	
RM11	ned	7	GA	55	ABI3700	19204350	121147	121/121	123/123	143/143	119/119	123/123	119/119	129/129	129/129	143/143	143/143	
RM7087	ned	7	AGAT	50	ABI3700	19304865	114	101/101	113/113	101/101	101/101	101/101	101/101	101/101	-/-	101/101	101/101	
RM560	ned	7	CT	55	ABI3700	19530534	239	233/233	239/239	237/237	237/237	237/237	237/237	239/239	239/239	237/237	235/235	
RM3404	ned	7	CT	50	ABI3700	20053345	206	188/188	208/208	178/178	188/188	178/178	186/186	182/182	182/182	178/178	178/178	
RM182	ned	7	AT	67	ABI3700	21451927	346	331/331	349/349	329/329	331/331	329/329	331/331	333/333	333/333	329/329	329/329	
RM336	hex	7	CTT	55	ABI3700	21818658	145	154/154	157/157	193/193	148/148	139/139	148/148	151/151	151/151	151/151	193/193	
RM455	6fam	7	TTCT	55	ABI3700	22298054	131	128/128	128/128	124/124	128/128	124/124	128/128	128/128	128/128	124/124	124/124	
RM7237	hex	7	ATAG	55	ABI3700	23176063	202	168/172	172/252	252/252	168/172	164/172	168/172	172/252	172/256	172/180	240/252	
RM7441	hex	7	GTGG	61	ABI3700	24935379	199	192/192	200/200	188/188	192/192	188/188	192/192	192/192	192/192	188/188	188/188	
RM234	6fam	7	CT	55	ABI3700	25420132	126164	140/140	132/132	152/152	140/140	152/152	134/134	136/136	136/136	152/152	152/152	
RM18	ned	7	(GA)AA(GA)AG	55	ABI377	25600022	137165	157/157	157/157	157/157	157/157	157/157	151/151	157/157	157/157	-/-	-/-	-/-
RM3555	ned	7	GA	50	ABI377	27838042	154	144/144	152/152	-/-	142/142	-/-	144/144	144/144	142/142	142/142	142/142	
RM248	hex	7	CT	55	ABI3700	29339144	72102	81/81	81/81	103/105	79/79	95/95	85/85	79/79	79/79	-/-	101/101	
RM420	6fam	7	AAAT	55	ABI3700	29430524	197	184/184	196/196	184/184	180/180	184/184	184/184	180/180	180/180	184/184	184/184	
RM10	hex	7	GA	55	ABI3700	NA	159177	159/159	161/161	159/159	169/169	165/165	159/159	159/159	159/247	161/161	159/159	
RM125	6fam	7	GCT	55	ABI3700	NA	127	112/112	112/112	136/136	112/112	103/103	112/112	112/112	112/112	112/112	103/103	
RM2	6fam	7	(GA)A(GA)	55	ABI3700	NA	119153	-/-	148/148	220/220	148/148	220/220	-/-	199/199	220/220	220/220	220/220	
RM481	ned	7	CAA	55	ABI3700	NA	169	199/202	166/166	160/160	160/160	148/148	160/160	160/160	187/187	148/148	160/160	
RM505	6fam	7	CT	55	ABI3700	NA	199	-/-	196/196	178/178	204/204	178/178	200/200	204/204	200/200	-/-	178/242	
RM6810	hex	7	TCT	50	ABI3700	NA	71	67/67	70/70	64/64	61/61	64/64	70/70	61/61	61/61	64/64	64/64	
RM408	6fam	8	CT	55	ABI3700	119997	128	126/126	126/126	118/118	-/-	118/118	126/126	118/118	118/118	118/118	118/118	
RM7034	6fam	8	AAAT	50	ABI3700	145364	149	121/121	121/121	65/65	121/121	121/121	121/121	121/121	121/121	65/65	121/121	
RM6925	ned	8	TTA	55	ABI3700	641682	271	198/198	132/132	168/168	237/237	132/132	234/234	-/-	132/132	132/132	132/132	
OSR34(RM152)	hex	8	GCG	55	ABI3700	677702	151	144/144	150/150	150/150	144/144	126/126	144/144	144/144	126/126	126/126	126/126	
RM152	hex	8	GGC	55	ABI3700	677702	151	-/-	71/83	149/149	143/143	127/127	-/-	143/143	127/155	127/127	127/155	

RM6863	ned	8	TGC	55	ABI3700	2005990	190	179/179	191/191	176/176	179/179	176/176	179/179	179/179	179/179	176/176	173/173
RM38	6fam	8	GA	55	ABI3700	2109541	236278	253/253	253/253	245/245	257/257	237/237	257/257	257/257	257/257	245/245	237/237
RM25	ned	8	GA	55	ABI3700	4372182	130160	119/141	117/141	135/135	121/141	143/143	121/141	121/141	145/145	145/145	145/145
RM7080	ned	8	ACCA	55	ABI3700	4694609	150	145/145	-/-	137/137	145/145	137/137	145/145	145/145	133/133	133/133	145/145
RM7057	6fam	8	AATT	50	ABI3700	5849990	177	163/163	163/163	163/163	163/163	163/163	-/-	163/163	163/163	163/163	163/163
RM7267	hex	8	ATCT	55	ABI3700	10181514	153	156/156	160/160	120/120	160/160	120/120	156/156	156/156	156/156	120/120	120/120
RM7027	6fam	8	AAAT	55	ABI3700	15714757	85	-/-	84/84	72/76	84/84	76/76	-/-	80/84	72/76	72/76	72/76
RM7285	hex	8	ATCT	55	ABI3700	18756384	181	161/165	177/177	149/157	165/165	149/157	169/169	165/165	165/165	149/157	149/157
RM3153	6fam	8	CA	55	ABI3700	18982448	154	140/154	140/140	140/140	140/140	84/84	140/140	-/-	154/154	140/140	150/150
RM42	6fam	8	(AG)(AG)T(GA)	55	ABI3700	19964404	166176	162/162	160/160	136/164	162/162	166/166	136/162	-/-	136/162	136/164	164/164
RM7049	6fam	8	AATA	50	ABI3700	20807910	159	147/147	155/155	135/135	147/147	135/135	147/147	135/135	147/147	135/135	135/135
RM7580	ned	8	TCTG	55	ABI3700	20821349	210	198/198	194/194	202/202	198/198	202/202	198/198	202/202	198/198	202/202	202/202
RM284	6fam	8	GA	55	ABI3700	21137914	150	142/142	144/144	140/140	142/142	140/140	142/142	104/104	104/104	140/140	140/140
RM7556	6fam	8	TCAC	50	ABI3700	22202567	131	128/128	128/128	120/120	128/128	120/120	128/128	128/128	128/128	120/120	120/120
RM210	ned	8	CT	55	ABI3700	22341708	121163	114/114	114/114	114/114	116/116	158/158	114/114	114/114	116/116	114/114	114/114
RM5353	6fam	8	TC	50	ABI3700	24114592	177	177/177	177/177	177/177	-/-	177/177	191/191	177/177	191/191	177/177	-/-
RM256	hex	8	CT	55	ABI3700	24140506	104	105/105	105/105	-/-	105/105	105/105	105/105	105/105	105/105	105/105	105/105
RM80	ned	8	TCT	55	ABI3700	24474208	123	101/101	131/131	122/122	101/101	125/125	122/122	113/113	122/122	134/134	134/134
RM447	hex	8	CTT	55	ABI3700	26542515	111	110/110	110/110	104/104	-/-	113/113	110/110	110/110	110/110	116/116	113/113
RM6075	hex	8	CCT	50	ABI3700	27764004	141	140/140	140/140	137/140	140/140	128/128	140/140	140/140	140/140	137/140	137/140
RM7400	hex	8	GATG	55	ABI3700	27892952	127	126/126	126/126	122/122	-/-	122/122	126/126	126/126	126/126	122/122	122/122
RM477	ned	8	AATT	55	ABI3700	28070747	223	221/221	221/221	217/217	221/221	217/217	221/221	221/221	221/221	217/217	217/217
OSR30	ned	8		56	ABI3700	NA	112	111/111	117/117	117/117	111/111	123/123	111/111	111/111	-/-	119/123	123/123
RM433	ned	8	AG	55	ABI3700	NA	224	-/-	222/222	224/224	222/222	224/224	-/-	224/224	224/224	224/224	222/222
RM44	6fam	8	GA	55	ABI3700	NA	99	108/108	-/-	102/102	108/108	-/-	108/108	-/-	102/102	102/102	102/102
RM316	hex	9	(GT)(TG)(TTG)(TG)	55	ABI3700	1022756	195	164/164	161/161	197/197	164/164	197/197	164/164	164/164	164/164	194/197	197/197
RM444	6fam	9	AT	55	ABI3700	5925016	162	161/161	159/159	-/-	159/159	-/-	159/159	167/167	159/159	-/-	209/209
RM7212	6fam	9	ATAG	55	ABI3700	6546861	151	144/144	144/144	148/148	144/144	148/148	144/144	144/144	144/144	148/148	148/148
RM7364	hex	9	CTAT	50	ABI3700	9509462	204	211/211	203/203	207/207	211/211	207/207	211/211	211/211	203/211	207/207	207/207

RM7390	ned	9	GATA	55	ABI3700	10417793	140	139/143	139/139	143/143	143/143	139/139	143/143	143/143	143/143	159/159	139/139
RM3769	ned	9	GA	50	ABI3700	11694773	103	103/103	101/101	109/109	-/-	93/93	101/101	101/101	101/101	93/93	-/-
RM7038	ned	9	AACA	50	ABI3700	11752077	152	149/149	149/149	-/-	-/-	145/145	149/149	-/-	149/149	145/145	-/-
RM105	ned	9	CCT	55	ABI3700	12496528	134	-/-	131/131	128/128	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
RM7289	hex	9	ATCT	50	ABI3700	17210236	195	191/191	195/195	175/175	211/211	171/171	203/203	203/203	203/203	175/175	175/175
RM6570	hex	9	GGA	55	ABI3700	18576133	119	119/119	119/119	110/122	119/119	122/122	119/119	119/119	119/119	119/119	122/122
RM242	ned	9	CT	55	ABI3700	18642201	193229	193/193	197/197	227/227	193/193	209/209	193/193	193/193	193/193	197/197	225/225
RM6251	ned	9	CTC	55	ABI3700	18889303	118	118/118	118/118	118/118	118/118	112/112	118/118	103/118	100/118	118/118	118/118
RM7343	hex	9	CCAT	50	ABI3700	19226069	96	93/93	93/93	89/89	93/93	89/89	93/93	93/93	93/93	-/-	89/89
OSR28	6fam	9	AGA	55	ABI3700	19788251	208	-/-	168/168	135/135	174/174	144/144	-/-	168/168	168/168	135/135	135/135
RM201	hex	9	CT	55	ABI3700	19879785	140	135/141	143/143	155/155	141/141	149/149	141/141	141/141	141/141	155/157	157/157
RM3808	hex	9	GA	55	ABI3700	20246518	119	121/121	119/119	131/131	129/129	-/-	119/119	117/117	115/115	121/121	117/151
RM1553	6fam	9	AT	55	ABI3700	20702581	161	152/152	154/154	198/198	-/-	152/152	152/152	152/152	152/152	154/154	-/-
RM215	6fam	9	CT	55	ABI3700	20888227	138152	151/151	153/153	147/147	149/149	145/145	149/149	149/149	149/149	145/145	145/145
RM6643	ned	9	GTC	50	ABI3700	21405830	143	142/142	142/142	142/142	-/-	142/142	142/142	142/142	142/142	142/142	142/142
RM7306	6fam	9	ATTA	50	ABI3700	21906545	157	138/138	138/138	138/138	138/138	150/150	150/150	150/150	138/138	138/138	154/154
RM2255	6fam	9	AT	55	ABI3700	22290441	191	137/137	139/139	133/133	137/137	133/133	137/137	137/137	137/137	131/131	133/133
RM205	hex	9	CT	55	ABI3700	22419780	122160	154/154	154/154	122/122	154/154	-/-	156/156	156/156	156/156	128/128	122/122
OG10	ned	9	AG	56	ABI3700	NA	128	94/94	122/122	118/118	96/96	118/118	96/96	98/98	96/96	92/92	118/118
OG106	hex	9	AG	56	ABI3700	NA	178254	-/-	234/234	204/204	232/232	200/200	238/238	242/242	244/244	204/204	204/204
OG45	6fam	9	AG	56	ABI3700	NA	232	-/-	240/240	222/222	224/224	222/222	224/224	238/238	238/238	222/222	222/222
OG74	6fam	9	(CCT)(CT)(TC)	50	ABI3700	NA	114	112/112	104/106	92/92	112/112	92/98	110/110	104/104	104/104	92/98	92/104
RM219	hex	9	CT	55	ABI3700	NA	180222	193/193	193/193	221/221	193/193	221/221	193/193	193/193	193/193	221/221	221/221
RM7492	6fam	10	TATC	55	ABI3700	33968	145	130/134	150/150	134/134	134/134	134/134	134/134	134/134	134/134	134/134	134/134
RM6370	6fam	10	GAA	55	ABI3700	324443	91	59/59	83/83	59/59	-/-	59/59	59/59	59/59	59/59	59/59	59/59
RM474	6fam	10	AT	55	ABI3700	1798932	252	260/260	251/251	275/275	-/-	224/224	254/254	260/260	254/254	224/224	233/233
RM7217	hex	10	ATAG	61	ABI3700	4278021	210	165/165	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	165/165	-/-
RM2125	ned	10	AT	55	ABI3700	4543325	142	108/108	108/108	108/108	108/108	108/108	108/108	108/108	108/108	-/-	108/108
RM239	6fam	10	(AG)TG(AG)	55	ABI3700	9216202	142146	143/143	117/117	143/143	-/-	143/143	117/141	141/141	141/141	143/143	143/143

RM4455	hex	10	TA	55	ABI3700	11221543	116	134/134	160/160	92/92	152/152	98/98	158/158	124/124	142/142	152/152	-/-
RM184	6fam	10	CA	55	ABI3700	16100732	219	202/202	214/214	202/202	202/202	216/216	202/202	202/202	202/202	202/202	202/202
RM1937	6fam	10	AT	55	ABI3700	17483480	120	102/102	198/198	190/190	102/102	198/198	102/102	102/102	102/102	102/102	102/102
RM171	6fam	10	GATG	55	ABI3700	18790632	328	327/327	343/343	343/343	343/343	323/323	343/343	343/343	343/343	323/323	323/323
RM3019	6fam	10	AT	55	ABI3700	19314204	198	131/131	153/153	117/117	153/153	-/-	155/155	155/155	155/155	123/123	117/117
RM7300	ned	10	ATTA	50	ABI3700	19484242	102	100/100	100/100	108/108	108/108	100/100	108/108	108/108	108/108	100/100	100/100
RM5352	hex	10	TC	55	ABI3700	20672962	169	167/185	159/185	169/169	167/167	169/169	185/185	159/167	167/167	169/169	-/-
RM484	ned	10	AT	55	ABI3700	20808566	299	291/291	297/297	293/293	291/291	293/293	291/291	291/291	291/291	293/293	293/293
RM591	6fam	10	AC	55	ABI3700	22451229	258	276/276	-/-	242/242	296/296	240/240	292/292	282/282	-/-	268/268	240/240
OG26	hex	10	AG	56	ABI3700	NA	106116	103/103	105/105	99/99	103/103	99/99	103/103	103/103	103/103	99/99	99/99
RM222	6fam	10	CT	55	ABI3700	NA	199221	202/202	198/198	202/202	204/204	202/202	204/204	204/204	204/204	222/222	216/216
RM269	hex	10	GA	55	ABI3700	NA	182	185/185	185/185	183/183	185/185	183/183	-/-	185/185	185/185	183/183	183/183
RM271	ned	10	GA	55	ABI3700	NA	90	88/88	88/88	100/100	88/88	110/110	88/88	90/90	88/88	100/100	102/102
RM181(OSR1)	6fam	11	(CT)(AT)	67	ABI3700	202113	240	270/270	270/270	266/266	270/270	266/266	270/270	270/270	-/-	268/268	-/-
RM7173	6fam	11	ATAG	55	ABI3700	442216	120	117/117	117/117	117/117	117/117	117/117	117/117	117/117	117/117	117/117	117/117
RM7453	ned	11	TAAT	55	ABI3700	933299	172	175/175	171/171	155/155	171/171	155/155	175/175	175/175	175/175	155/155	155/155
RM7203	6fam	11	ATAG	55	ABI3700	1083931	106	105/105	105/105	89/89	105/105	89/89	105/105	105/105	101/105	105/105	89/89
RM3668	6fam	11	GA	50	ABI3700	1463399	101	93/93	109/109	89/89	-/-	89/89	93/93	93/93	93/93	89/89	89/89
RM7557	ned	11	TCAC	50	ABI3700	2327475	177	176/176	176/176	176/176	176/176	180/180	176/176	176/176	176/176	-/-	-/-
RM5599	6fam	11	AAC	55	ABI3700	3808934	148	122/122	143/143	128/128	143/143	128/128	122/122	122/122	122/122	122/122	122/122
RM552	hex	11	TAT	55	ABI3700	4817484	195	175/220	193/193	178/178	175/220	172/178	175/175	220/220	220/220	175/175	178/178
RM4504	ned	11	TA	55	ABI3700	5399898	127	102/102	102/102	102/102	102/102	102/102	102/102	102/102	102/102	104/104	102/102
RM120	6fam	11	(GA)TAG(ATC)		ABI3700	5727768	173	167/167	167/167	165/165	167/167	165/165	167/167	167/167	167/167	169/169	165/165
RM116	ned	11	CT	55	ABI3700	5740642	258	278/278	278/278	276/276	278/278	276/276	278/278	278/278	278/278	280/280	276/276
RM536	ned	11	CT	55	ABI3700	8891825	243	234/234	246/246	228/228	-/-	232/232	244/244	234/234	228/228	228/228	226/226
RM202	hex	11	CT	55	ABI3700	8908399	189	187/187	175/175	183/183	187/187	-/-	175/175	187/187	183/183	183/183	187/187
RM7283	hex	11	ATCT	55	ABI3700	9024217	183	166/170	182/182	-/-	-/-	154/154	190/190	170/170	146/146	142/146	150/154
RM7391	hex	11	GATA	55	ABI3700	9840093	193	197/197	193/193	145/145	197/197	229/229	201/201	197/197	229/229	229/229	229/229
RM7463	ned	11	TACA	55	ABI3700	10095283	187	189/189	185/185	217/217	189/189	217/217	189/189	189/189	217/217	217/217	217/217

RM7120	6fam	11	ATAA	55	ABI3700	11685002	153	150/150	150/150	150/150	150/150	158/158	150/150	150/150	150/150	150/150	158/158
RM3428	6fam	11	CT	55	ABI3700	13366615	156	155/155	153/153	139/139	155/155	141/141	155/155	155/155	155/155	139/139	141/141
RM7226	hex	11	ATAG	55	ABI3700	13936515	163	155/155	163/163	179/179	159/159	151/151	151/151	155/155	155/155	179/183	151/151
RM7303	6fam	11	ATTA	55	ABI3700	16396823	131	128/128	128/128	128/128	128/128	128/128	128/128	128/128	128/128	128/128	128/128
RM287	ned	11	GA	55	ABI3700	16610716	108	102/102	104/104	114/142	102/102	94/94	102/102	104/104	102/102	102/102	114/114
RM7275	hex	11	ATCT	50	ABI3700	16880270	199	197/197	201/201	197/197	-/-	185/185	197/197	197/197	197/197	-/-	-/-
RM209	6fam	11	CT	55	ABI3700	17771755	108164	161/161	125/125	131/131	131/131	131/131	159/159	161/161	161/161	127/127	129/129
RM229	hex	11	(TC)(CT)(CT)	55	ABI3700	18372685	90130	125/125	129/129	-/-	127/127	115/115	125/125	125/125	125/125	121/121	115/115
RM5349	6fam	11	TC	55	ABI3700	18985185	123	114/114	120/120	110/110	114/114	106/106	114/114	114/114	114/114	106/110	106/106
RM206	hex	11	CT	55	ABI3700	21626840	127201	199/199	173/173	167/167	181/181	167/167	189/189	183/183	183/183	159/167	165/165
RM7277	hex	11	ATCT	55	ABI3700	23829259	148	162/162	162/162	162/162	162/162	162/162	162/162	162/162	162/162	122/122	-/-
RM7170	ned	11	ATAG	55	ABI3700	24420094	177	173/173	177/177	173/173	-/-	173/173	173/173	173/173	173/173	173/173	173/173
RM7163	6fam	11	ATAC	55	ABI3700	25895169	200	142/142	142/142	142/142	-/-	142/142	142/142	142/142	142/142	142/142	142/142
RM7221	hex	11	ATAG	55	ABI3700	26421766	183	167/167	167/167	143/183	167/167	143/143	167/167	167/167	135/143	143/183	143/183
RM224	ned	11	(AAG)(AG)	55	ABI3700	26796502	124159	121/121	121/121	145/145	121/121	145/145	154/154	157/157	142/142	154/154	157/157
RM7654	hex	11	TTTC	55	ABI3700	27159528	173	186/186	178/178	178/178	186/186	-/-	186/186	-/-	-/-	170/170	178/178
RM7654	ned	11	TTTC	55	ABI3700	27159528	216	220/220	220/220	220/220	220/220	220/220	220/220	220/220	220/220	-/-	220/220
RM7228	hex	11	ATAG	50	ABI3700	27707098	202	205/205	205/205	197/197	-/-	-/-	189/189	189/189	-/-	-/-	-/-
RM144	ned	11	ATT	55	ABI3700	28173902	237	244/244	256/256	220/220	244/244	229/229	250/250	250/250	220/220	220/220	220/220
OG7	hex	11	AG	56	ABI3700	NA	162	157/157	161/161	153/153	159/159	147/147	157/157	157/157	157/157	153/153	147/147
RM139	hex	11	CT	55	ABI3700	NA	386	350/350	350/350	360/360	350/350	360/360	350/350	350/350	360/360	360/360	350/360
RM21	6fam	11	GA	55	ABI3700	NA	140	150/150	138/138	126/126	152/152	164/164	150/150	150/150	150/150	128/128	166/166
RM254	6fam	11	(TC)ATT(CT)	55	ABI3700	NA	165	159/159	157/157	159/159	167/167	165/165	159/159	159/159	165/165	161/161	165/165
RM7315	hex	12	CACG	55	ABI3700	2182044	189	188/188	188/188	172/172	188/188	172/172	188/188	188/188	188/188	172/188	172/172
RM453	ned	12	TC	55	ABI3700	2690459	178	-/-	172/172	172/172	176/176	-/-	172/172	176/176	172/172	172/176	172/172
RM247	ned	12	CT	55	ABI377	3185544	129175	135/135	157/157	135/135	157/157	135/135	157/157	135/135	-/-	135/135	121/121
RM7448	ned	12	TAAT	55	ABI3700	3520946	198	197/197	197/197	-/-	197/197	-/-	197/197	197/197	197/197	-/-	-/-
RM7619	ned	12	TGTA	50	ABI3700	4828887	196	151/191	191/191	155/155	151/187	155/155	151/191	151/191	151/191	155/155	155/155
RM3455	ned	12	CT	55	ABI3700	4919671	92	102/102	90/90	102/102	102/102	90/90	102/102	102/102	102/102	-/-	90/90

RM7119	hex	12	AGTT	55	ABI3700	6694741	152	142/142	108/142	108/108	-/-	-/-	108/142	108/142	108/142	108/108	108/108
RM101(OSR2, RM151)	ned	12	CT	55	ABI3700	8828359	324	326/326	318/318	260/260	318/318	308/308	318/318	320/320	320/320	262/262	260/260
RM7102	6fam	12	AGAT	55	ABI3700	13258404	169	173/173	-/-	93/93	173/173	-/-	173/173	-/-	-/-	185/185	169/169
RM1261	ned	12	AG	50	ABI3700	17578154	167	169/169	155/155	169/169	185/185	169/169	167/167	155/155	155/155	159/159	163/163
RM7018	ned	12	AAAG	50	ABI3700	22230170	171	117/117	117/117	161/161	117/157	161/161	157/157	117/117	117/117	161/169	169/169
RM3226	hex	12	CT	50	ABI3700	24144163	99	98/98	98/98	100/100	98/98	96/96	98/98	98/98	98/98	98/98	98/98
RM235	6fam	12	CT	55	ABI3700	26107904	86134	98/98	-/-	130/130	94/94	138/138	94/94	-/-	98/98	-/-	-/-
RM12(RM17)	ned	12	GA	55	ABI3700	26954668	184	157/157	157/157	183/183	157/157	157/157	157/157	157/157	157/157	183/183	183/183
RM17(RM12)	ned	12	GA	55	ABI3700	26954668	184	157/157	157/157	183/183	157/157	-/-	157/157	153/153	157/157	-/-	157/157
RM4552	6fam	12	TA	55	ABI3700	27019670	167	173/179	205/205	179/179	171/171	179/179	177/177	179/179	177/177	-/-	177/177
RM7558	hex	12	TCAG	55	ABI3700	27085614	149	145/145	145/145	141/141	145/145	145/145	141/141	145/145	145/145	141/141	141/141
RM19	6fam	12	ATC	55	ABI3700	NA	226	216/216	212/212	244/244	216/216	244/244	216/216	216/216	216/216	246/246	242/242
RM270	ned	12	GA	55	ABI3700	NA	120	108/108	116/116	106/106	108/108	106/106	108/108	104/104	-/-	106/106	104/104
RM277	hex	12	GA	55	ABI3700	NA	118	-/-	115/119	119/119	115/119	119/119	-/-	115/119	115/119	119/119	115/119
RM415	hex	12	AT	55	ABI3700	NA	227	234/234	240/240	222/222	238/238	224/238	238/238	-/-	224/240	210/210	236/236
RM238B	ned	1 e 6	CT	55	ABI3700	NA	150	141/141	-/-	137/137	135/135	137/137	131/131	135/135	137/137	135/135	149/149
RM325B	hex	6, 7 e 8	(CAT)TAG(CAT)	55	ABI3700	NA	200230	-/-	-/-	210/210	-/-	210/210	210/210	210/210	210/210	210/210	210/210
OG23	ned	NM		56	ABI3700	NA	262	-/-	-/-	-/-	207/207	235/235	187/187	233/233	229/229	209/209	213/213
OG43	6fam	NM		56	ABI3700	NA	80	80/78	78/78	90/90	80/80	86/86	80/80	80/80	80/80	80/80	80/80
OG56	hex	NM		56	ABI3700	NA	134	-/-	128/128	130/130	128/128	120/120	128/128	128/128	128/128	130/130	130/130
OG78	ned	NM		56	ABI3700	NA	78	78/78	76/76	58/58	86/86	-/-	78/78	86/86	86/86	64/64	64/64
OG82	6fam	NM		56	ABI3700	NA	118122	122/122	122/122	-/-	-/-	122/122	122/122	122/122	122/122	122/122	122/122
OG84	6fam	NM		56	ABI3700	NA	116	119/119	119/119	119/119	119/119	119/117	119/119	119/119	119/119	119/119	119/119
OG86	6fam	NM		56	ABI3700	NA	108	116/116	118/118	116/116	116/116	116/116	116/116	116/116	116/116	116/116	116/116
OG96	ned	NM		56	ABI3700	NA	127	128/128	126/126	114/114	128/128	116/116	128/128	128/128	128/128	114/114	114/114
RM6822	hex	NM	TCT	50	ABI3700	NA	118	121/121	115/115	103/103	121/121	103/103	121/121	121/121	121/121	103/103	103/103
RM7272	hex	NM	ATCT	50	ABI3700	NA	193	187/187	179/179	127/127	183/183	127/127	183/183	183/183	-/-	-/-	127/127
RM7276	hex	NM	ATCT	55	ABI3700	NA	128	110/114	114/114	110/114	-/-	150/150	114/114	114/122	122/126	114/114	110/114
RM7411	ned	NM	GCAC	50	ABI3700	NA	201	199/199	199/199	187/187	199/199	187/187	-/-	199/199	199/199	187/187	187/187

RM7504	ned	NM	TATC	55	ABI3700	NA	232	247/247	231/231	235/235	247/247	223/223	247/247	247/247	247/247	235/235	223/223
RM7652	ned	NM	TTTC	55	ABI3700	NA	216	219/219	215/215	211/211	219/219	211/211	219/219	219/219	211/211	211/223	211/279
RM2848*	6fam	todos	AT	55	ABI3700	NA	262	261/261	261/261	-/-	261/261	261/261	261/261	261/261	261/261	261/261	261/261

Locos	Fluorescencia	Cr	Motivo	Ta°C	Modelo seq	Mapafísico (pb)	pb -esp	CNAi9029	CNAi9930	Colombia	Curinga	Diamante	Farroupilha	Formoso	Irga417	Mutante	Nipponbare
RM495	6-fam	1	CTG	55	ABI3700	216000	159	146/146	158/158	158/158	146/146	146/146	158/158	146/146	146/146	-/-	158/158
RM3252	ned	1	CT	55	ABI3700	301947	172	217/227	169/169	171/171	159/159	225/225	171/171	227/227	225/225	205/205	171/171
RM7536	6-fam	1	TATG	50	ABI3700	1667714	102	98/98	98/98	98/98	98/98	98/98	98/98	98/98	98/98	94/98	98/98
RM7278	hex	1	ATCT	55	ABI3700	1793925	175	194/198	194/194	230/230	166/166	194/194	234/234	194/194	194/194	194/194	-/-
RM3740	6-fam	1	GA	50	ABI3700	2800091	135	119/121	119/139	-/-	119/119	121/121	119/119	119/119	121/121	119/119	131/131
RM7383	6-fam	1	GAAG	55	ABI3700	3483480	176	170/174	170/170	158/158	158/158	170/170	158/158	174/174	170/170	174/174	174/174
RM220	ned	1	CT	55	ABI3700	4424458	127	105/119	119/119	105/105	105/105	119/119	105/105	105/105	119/119	119/119	123/123
RM1	ned	1	AG	55	ABI3700	4633595	113	86/104	110/110	86/86	88/88	110/110	88/88	-/-	110/110	104/104	74/74
RM283	ned	1	GA	55	ABI3700	4885944	151	147/151	151/151	147/147	147/147	151/151	147/147	147/147	151/151	151/151	155/155
RM7086	ned	1	AGAC	55	ABI3700	6192761	140	146/146	158/158	158/158	146/146	146/146	158/158	146/146	146/146	-/-	158/158
RM5359	hex	1	TC	50	ABI3700	7178539	198	191/191	193/193	191/191	191/191	193/193	199/199	191/191	191/199	197/197	191/191
RM259	ned	1	CT	55	ABI3700	7443429	152-172	152/152	156/156	156/156	170/170	154/154	-/-	154/154	154/154	154/154	172/172
RM3412	6-fam	1	CT	55	ABI3700	11566961	211	209/215	211/211	213/213	211/211	225/225	217/217	215/215	225/225	211/211	209/209
RM7075	hex	1	ACAT	50	ABI3700	15101795	155	99/103	123/123	-/-	151/151	123/123	151/151	135/135	123/123	135/135	151/151
RM24	hex	1	GA	55	ABI3700	18973726	152-198	185/185	185/185	185/185	185/185	185/185	185/185	185/185	185/185	185/185	185/185
RM5638	ned	1	AAG	55	ABI3700	20932038	203	231/237	102/201	207/237	201/201	231/231	198/198	231/237	231/231	231/237	201/201
RM7405	ned	1	GATG	55	ABI3700	21899261	109	93/93	93/93	-/-	109/109	93/93	109/109	109/109	93/93	109/109	109/109
RM9	ned	1	(GA)GT(GA)	55	ABI3700	23322266	124-194	131/131	127/131	181/181	191/191	131/131	125/125	131/131	135/135	-/-	-/-
RM5	ned	1	GA	55	ABI3700	23968577	96-130	110/112	110/110	114/114	114/114	112/112	112/112	112/112	112/112	110/110	112/112
RM7124	6-fam	1	ATAA	55	ABI3700	24386986	167	146/154	146/154	154/162	154/162	154/154	-/-	154/154	146/154	158/162	158/166
RM7266	hex	1	ATCT	55	ABI3700	24446309	206	174/178	174/178	174/178	170/178	174/178	206/206	174/178	178/178	178/178	206/206
RM5919	6-fam	1	ATT	61	ABI3700	24732675	237	-/-	255/255	246/246	246/246	249/249	234/234	-/-	249/249	-/-	237/237
RM7202	6-fam	1	ATAG	50	ABI3700	26197344	157	150/150	-/-	150/150	150/150	150/150	154/154	150/150	150/150	150/150	154/154

RM246	ned	1	CT	55	ABI3700	27663069	92-116	109/109	93/93	109/109	109/109	115/115	109/109	109/109	115/115	109/109	111/111
RM7514	6-fam	1	TATG	50	ABI3700	29570745	173	171/171		171/171	171/171	-/-	171/171	171/171	171/171	-/-	-/-
RM1183	ned	1	AG	50	ABI3700	30973520	146	131/131	131/131	143/143	143/143	131/131	143/143	146/146	131/131	143/143	146/146
RM7650	ned	1	TTTC	50	ABI3700	31706322	115	114/114	114/114	114/114	114/114	114/114	114/114	114/114	114/114	114/114	114/114
RM212	hex	1	CT	55	ABI3700	33047896	112-136	132/132	110/110	114/114	114/114	132/132	114/114	132/132	132/132	132/132	114/114
RM226	6-fam	1	AT	55	ABI3700	34027374	245-335	132/132	142/142	132/132	142/142	132/132	132/132	142/142	142/142	140/140	132/132
RM315	hex	1	(AT)(GT)	55	ABI3700	36728458	130-145	133/133	-/-	-/-	137/137	133/133	139/139	133/133	133/133	133/133	137/137
RM431	ned	1	AG	55	ABI3700	38888469	251	253/253	-/-	-/-	251/251	255/255	249/249	253/253	253/253	255/255	249/249
RM7600	hex	1	TGGA	50	ABI3700	39168149	109	92/104	92/104	92/108	92/108	92/104	92/108	92/104	92/104	92/92	92/108
OSR23	ned	1	CT	55	ABI3700	40433824	138	142/142	142/142	138/138	138/138	142/142	138/138	144/144	142/142	142/142	138/138
RM3362	6-fam	1	CT	50	ABI3700	43036403	139	124/124	124/124	124/124	124/124	126/126	136/136	124/124	124/124	124/124	136/136
OG12	6-fam	1	(TC)(TG)T(TG)T(TG)	56	ABI3700	NA	212	219/219	211/211	203/203	203/203	217/217	239/239	221/221	217/217	217/217	207/207
OG65	6-fam	1	(CT)C(CT)	56	ABI3700	NA	210	208/208	224/224	-/-	208/208	222/222	208/208	208/208	222/222	208/208	208/208
OG79	ned	1	AG	50	ABI3700	NA	191	196/196	188/188	188/188	188/188	196/196	186/186	196/196	196/196	188/188	-/-
OG81	6-fam	1	AG	56	ABI3700	NA	71-89	72/72	72/72	88/88	72/86	72/72	78/78	72/72	78/78	72/72	76/76
RM306	6-fam	1	(GT)(AT)CT(GT)	55	ABI3700	NA	138	154/154	152/152	148/148	148/148	152/152	132/132	152/152	152/152	154/154	132/200
RM312	ned	1	(ATTT)(GT)	55	ABI3700	NA	102	99/99	99/99	99/99	96/96	99/99	96/96	99/99	-/-	99/99	96/96
RM34	hex	1	(CT)(TC)	55	ABI377	NA	161	170/170	170/170	170/170	170/170	170/170	170/170	170/170	170/170	170/170	170/170
RM568	6-fam	1	CT	55	ABI3700	NA	266	243/265	-/-	-/-	255/255	267/267	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
RM84	ned	1	TCT	55	ABI3700	NA	110	112/112	-/-	115/115	112/112	112/112	109/109	112/118	112/112	112/112	109/109
RM7451	ned	2	TAAT	55	ABI3700	651894	154	144/160	144/144	152/152	152/152	152/152	152/152	144/144	160/160	152/152	152/152
RM154	6-fam	2	GA	61	ABI3700	1083920	183	192/192	188/188	188/188	188/188	188/188	192/192	188/192	192/192	192/192	188/188
RM7033	6-fam	2	AAAT	55	ABI3700	1660893	142	-/-	135/135	127/127	127/127	135/135	135/135	-/-	135/135	127/127	135/135
RM233	hex	2	CT	55	ABI3700	2069884	162	137/137	137/137	141/141	137/137	135/159	137/137	143/143	159/159	137/137	137/137
RM1075	hex	2	AC	50	ABI3700	3833177	200	205/205	167/197	207/207	211/211	193/193	197/197	193/193	-/-	167/167	197/197
RM7581	ned	2	TCTG	55	ABI3700	4206413	228	130/130	242/242	238/238	230/230	230/230	130/130	130/130	-/-	130/130	-/-
RM7215	6-fam	2	ATAG	55	ABI3700	4790692	110	87/99	87/87	87/87	91/91	87/87	103/103	87/87	99/99	87/87	107/107
RM7575	ned	2	TCTA	50	ABI3700	6165207	118	185/185	221/221	185/185	197/197	221/221	201/201	221/221	221/221	185/185	197/197
RM7355	hex	2	CTAC	55	ABI3700	7143991	191	-/-	188/188	188/188	188/188	188/188	188/188	188/188	192/192	192/192	188/188

RM7636	ned	2	TTCT	50	ABI3700	7663343	166	154/154	154/154	154/154	154/154	154/154	166/166	154/154	154/154	154/154	166/166
RM145	hex	2	GA	67	ABI3700	7706071	215	163/169	171/171	163/163	165/165	-/-	165/165	171/171	169/169	167/167	165/165
RM71	hex	2	(ATT)T(ATT)	55	ABI3700	8760433	125	138/138	138/138	123/123	123/123	147/147	123/123	138/138	-/-	138/138	123/123
RM7288	hex	2	ATCT	55	ABI3700	9032703	146	140/140	140/140	144/144	180/180	140/140	148/148	128/128	140/140	-/-	-/-
RM7501	ned	2	TATC	50	ABI3700	9243319	152	-/-	-/-	88/92	88/92	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	92/92
RM452	6-fam	2	GTC	55	ABI3700	9562527	209	204/204	204/204	207/207	207/207	204/204	207/207	204/204	204/204	204/204	207/207
RM290	6-fam	2	GA	55	ABI3700	10806307	172	178/178	140/140	172/172	140/140	178/178	172/172	140/140	178/178	178/178	170/170
RM300	ned	2	GTT	55	ABI3700	13190528	168	124/127	124/124	163/163	-/-	127/127	160/160	124/124	124/124	127/127	166/166
RM7624	ned	2	TTAA	50	ABI3700	21006250	133	181/181	181/185	181/181	-/-	181/181	-/-	181/181	181/181	181/181	181/181
RM7205	6-fam	2	ATAG	50	ABI3700	23526119	177	209/209	173/173	-/-	173/173	173/173	173/173	173/209	209/209	173/173	173/173
RM263	6-fam	2	CT	55	ABI3700	25865334	160	155/155	155/155	159/159	157/157	155/155	157/157	177/177	181/181	181/181	155/155
RM7511	ned	2	TATC	55	ABI3700	26626712	194	206/206	182/182	178/178	182/182	182/182	190/190	202/202	206/206	206/206	194/194
RM6535	hex	2	GCG	55	ABI3700	31164313	132	129/129	129/129	129/129	129/129	129/129	129/129	129/129	129/129	129/129	129/129
RM240	hex	2	CT	55	ABI3700	31497147	131-157	110/110	132/132	110/110	110/110	134/134	108/108	110/110	132/132	132/132	-/-
RM7307	hex	2	ATTC	55	ABI3700	32871280	100	102/102	102/102	-/-	98/98	102/102	-/-	102/102	102/102	102/102	98/98
RM7286	hex	2	ATCT	55	ABI3700	33019042	133	81/81	81/81	133/133	117/117	81/81	129/129	81/81	81/81	-/-	129/129
RM3774	hex	2	GA	55	ABI3700	34462909	156	156/156	152/152	142/142	142/142	152/152	154/154	152/152	156/156	144/144	154/154
RM208	hex	2	CT	55	ABI3700	35160202	158-180	131/131	129/129	127/127	123/127	129/129	117/117	131/131	129/129	131/131	121/121
RM498	ned	2	CA	55	ABI3700	35391758	213	218/218	218/218	218/218	218/218	218/218	212/212	218/218	218/218	218/218	212/212
RM207	hex	2	CT	55	ABI3700	35393930	118	131/131	129/129	127/127	-/-	129/129	117/117	131/131	129/129	131/131	121/121
RM6923	6-fam	2	TTA	50	ABI3700	35718230	161	157/157	157/157	157/157	157/157	157/157	157/157	157/157	157/157	157/157	157/157
OG63	hex	2	(TCA)(TC)ATGA (CA)TG(GA)	56	ABI3700	NA	110	121/121	121/121	121/121	121/121	121/121	109/109	121/121	121/121	123/123	-/-
OG87	6-fam	2	AG	56	ABI3700	NA	184-190	121/121	121/121	-/-	119/119	121/121	109/109	-/-	119/119	153/153	109/109
OSR14	6-fam	2	GA	55	ABI3700	NA	218-222	201/203	203/203	199/199	203/203	183/183	199/199	203/203	203/203	199/199	199/199
RM211	hex	2	(TC)A(TC)	55	ABI3700	NA	140	140/140	140/140	140/140	140/140	160/160	140/140	150/150	140/140	140/140	140/140
RM27	hex	2	GA	55	ABI3700	NA	158	156/156	156/156	152/152	156/156	158/158	152/152	156/156	156/156	158/158	152/152
RM29	hex	2	GA	55	ABI377	NA	188-200	191/191	190.66	203/203	191/191	191/191	203/203	191/191	191/191	191/191	203/203
RM327	hex	2	(CAT)(CTT)	55	ABI3700	NA	220	208/208	-/-	217/217	217/217	214/214	217/217	208/208	208/208	208/208	217/217
RM341	6-fam	2	CTT	55	ABI3700	NA	135	170/170	170/170	140/140	140/140	170/170	140/140	170/170	170/170	170/170	134/134

RM475	ned	2	TATC	55	ABI3700	NA	235	195/195	195/195	199/199	199/199	183/183	199/199	195/195	195/195	195/195	235/235
RM561	hex	2	GA	55	ABI3700	NA	190	185/185	191/191	187/187	187/187	185/185	187/187	191/191	185/185	-/-	187/187
RM8	hex	2	(GA)C(GA)	55	ABI3700	NA	252	293/293	-/-	293/293	295/295	293/293	297/297	293/293	295/295	297/297	297/297
RM7332	hex	3	ACAT	50	ABI3700	390640	205	135/135	135/135	159/159	147/147	135/135	147/147	135/135	135/135	135/135	195/195
RM22	ned	3	GA	55	ABI3700	1500298	190	195/195	195/195	187/187	189/189	193/193	187/187	193/193	195/195	195/195	187/187
RM569	hex	3	CT	55	ABI3700	1889728	175	175/175	175/175	-/-	197/197	175/175	173/173	175/175	175/175	175/175	-/-
RM81	ned	3	TCT	55	ABI3700	1925952	110	117/120	120/120	114/114	108/108	120/120	114/114	117/117	120/120	117/117	114/114
RM489	6-fam	3	ATA	55	ABI3700	4316616	271	233/233	233/233	266/266	266/266	233/233	269/269	233/233	233/233	-/-	269/269
RM7576	ned	3	TCTA	50	ABI3700	6046794	206	218/218	218/218	-/-	206/206	222/222	206/206	218/218	250/250	218/218	206/206
RM3461	6-fam	3	CT	55	ABI3700	8318931	169	168/168	144/150	148/148	-/-	166/166	152/152	166/166	166/166	144/144	168/168
RM7365	ned	3	CTAT	55	ABI3700	11249257	167	152/164	164/164	164/164	176/176	164/164	172/172	164/164	164/164	-/-	164/164
RM7425	6-fam	3	GGCA	50	ABI3700	11588760	189	188/188	188/188	188/188	188/188	188/188	188/188	188/188	188/188	188/188	188/188
RM282	hex	3	GA	55	ABI3700	12387497	128	134/134	134/134	128/128	128/128	136/136	128/128	134/134	136/136	136/136	128/128
RM5551	hex	3	TG	55	ABI3700	12901379	118	129/135	127/127	131/131	121/121	139/139	133/133	129/129	139/139	127/127	117/117
RM338	hex	3	CTT	55	ABI3700	13201597	183	182/182	182/182	179/179	179/179	176/182	182/182	176/182	182/182	182/182	182/182
RM1164	hex	3	AG	55	ABI3700	14694597	200	190/190	190/190	190/190	190/190	190/190	190/190	190/190	190/190	198/198	200/200
RM6881	6-fam	3	TGG	61	ABI3700	16685678	78	-/-	77/77	63/63	77/77	77/77	79/79	77/77	77/77	-/-	77/77
RM7431	ned	3	GTAC	55	ABI3700	19324752	145	139/139	139/139	139/139	139/139	139/139	143/143	139/139	139/139	-/-	143/143
RM411	6-fam	3	GTT	55	ABI3700	21385364	110	102/102	102/102	110/110	102/102	102/102	110/110	102/102	102/102	102/102	110/110
RM16	hex	3	(TCG)(GA)	55	ABI3700	22928552	181	180/180	182/182	168/168	182/182	182/182	166/166	182/182	182/182	166/166	166/166
RM5626	ned	3	AAG	55	ABI3700	24671259	98	93/93	93/93	93/96	93/93	90/93	96/96	93/93	93/93	93/93	-/-
RM7117	hex	3	AGGA	55	ABI3700	28578069	158	144/144	144/144	144/156	156/180	156/156	156/156	144/144	144/144	-/-	156/156
RM416	hex	3	GA	55	ABI3700	31194667	114	111/111	113/113	113/113	-/-	113/113	113/113	111/111	111/111	111/111	113/113
RM7076	6-fam	3	ACAT	55	ABI3700	33599297	199	190/190	-/-	214/214	-/-	210/210	210/210	-/-	210/210	210/210	194/194
RM422	hex	3	AG	55	ABI3700	33655206	385	345/345	345/345	387/387	-/-	381/381	387/387	387/387	383/383	383/383	385/385
RM514	6-fam	3	AC	55	ABI3700	35074716	259	240/246	244/244	242/242	250/250	266/266	244/244	244/244	266/266	246/246	244/244
RM570	6-fam	3	AG	55	ABI3700	35534495	208	-/-	-/-	-/-	-/-	268/268	-/-	252/252	242/242	-/-	-/-
RM7389	ned	3	GATA	55	ABI3700	36101237	111	-/-	105/105	105/105	-/-	-/-	109/109	105/105	-/-	-/-	109/109
OG66	ned	3	(AT)(CT)	56	ABI3700	NA	160	140/140	138/138	174/174	166/166	140/140	-/-	-/-	138/138	150/150	158/158

OSR16	ned	3		56	ABI3700	NA	128	127/127	127/127	-/-	127/127	127/127	127/127	127/127	127/127	127/127	-/-
RM231	hex	3	CT	55	ABI3700	NA	162-188	184/192	184/184	180/180	182/182	184/184	190/190	192/192	168/166	192/192	190/190
RM232	hex	3	CT	55	ABI3700	NA	142-166	-/-	147/147	143/143	159/159	157/157	157/157	147/147	147/147	141/141	155/155
RM55	hex	3	GA	55	ABI3700	NA	217-235	226/226	226/226	234/234	232/232	232/232	236/236	226/226	226/226	232/232	234/234
RM7	ned	3	GA	55	ABI3700	NA	168-182	181/181	169/169	167/173	167/173	181/181	169/175	169/169	163/169	167/167	175/175
RM7585	6-fam	4	TCTT	50	ABI3700	219842	157	149/149	149/149	145/145	153/153	149/149	145/145	149/149	149/149	149/149	153/153
RM335	6-fam	4	CTT	55	ABI3700	679893	112	-/-	148/148	145/145	109/109	148/148	139/139	-/-	100/100	115/115	109/109
RM5414	6-fam	4	TC	55	ABI3700	2021760	116	105/105	105/105	111/111	113/113	105/105	109/109	105/105	105/105	113/113	113/113
RM7200	6-fam	4	ATAG	55	ABI3700	4019299	174	165/165	173/173	177/177	173/173	165/165	181/181	165/165	177/177	173/173	173/173
RM261	hex	4	C(CT)	55	ABI3700	6558964	105-125	123/123	129/129	121/121	-/-	123/123	121/121	123/123	123/123	123/123	-/-
RM7472	ned	4	TAGA	50	ABI3700	7057445	112	-/-	111/111	-/-	119/119	111/111	119/119	111/111	111/111	171/171	111/111
RM7279	hex	4	ATCT	55	ABI3700	13825526	201	-/-	180/180	212/212	212/212	184/184	208/208	172/172	180/180	-/-	-/-
RM7181	hex	4	ATAG	55	ABI3700	15439751	144	142/142	142/142	142/142	142/142	142/142	142/142	142/142	162/162	142/142	142/142
RM7290	hex	4	ATGG	50	ABI3700	15709786	148	-/-	143/143	155/155	143/143	155/155	143/143	143/143	155/155	143/155	143/143
RM5687	ned	4	AAT	50	ABI3700	15927814	158	-/-	193/193	-/-	178/178	214/214	202/202	190/190	163/163	190/190	154/154
RM7113	6-fam	4	AGAT	50	ABI3700	18340226	213	224/256	-/-	252/256	220/248	220/220	248/248	256/256	256/256	220/220	212/212
RM6314	ned	4	CTT	50	ABI3700	18627879	169	165/165	165/165	171/171	171/171	168/168	171/171	165/165	140/140	165/165	169/169
RM185	6-fam	4	AGG	61	ABI3700	18762727	197	191/191	191/191	194/194	194/194	194/194	194/194	191/191	191/191	191/191	194/194
RM5951	hex	4	CAC	55	ABI3700	19965149	92	84/87	87/87	87/87	87/87	87/87	84/84	84/84	87/87	87/87	84/87
RM119	hex	4	GTC	67	ABI3700	21227137	166	171/171	171/171	165/165	165/165	168/168	165/165	171/171	171/171	168/168	165/165
RM3337	ned	4	CT	50	ABI3700	21913014	125	123/123	123/123	123/123	123/123	123/123	123/123	123/123	123/123	123/123	123/123
RM252	hex	4	CT	55	ABI3700	25337620	192	228/228	248/248	194/194	194/194	216/216	196/196	216/216	216/216	216/216	196/196
RM7210	6-fam	4	ATAG	50	ABI3700	28613261	158	128/128	128/128	156/156	176/176	128/128	156/156	128/128	80/80	128/128	-/-
RM7208	6-fam	4	ATAG	50	ABI3700	30175734	180	127/131	127/127	127/127	183/183	127/127	179/179	127/127	123/127	127/127	179/179
RM349	6-fam	4	GA	55	ABI3700	32718532	136	131/131	129/129	143/143	129/129	129/129	127/127	131/131	129/129	129/129	143/143
RM348	hex	4	CAG	55	ABI3700	32869438	136	130/130	130/130	139/139	130/130	130/130	139/139	130/130	130/130	130/130	139/139
RM7410	hex	4	GCAC	50	ABI3700	34076091	145	152/152	120/120	-/-	120/120	140/140	120/120	120/120	120/120	120/120	120/120
RM567	6-fam	4	GA	55	ABI3700	34499760	261	243/243	243/243	249/249	251/251	243/243	253/253	243/243	243/243	243/243	255/255
RM7474	hex	4	TAGA	50	ABI3700	34539185	121	-/-	111/111	123/123	103/103	119/119	115/115	111/111	123/123	-/-	-/-

RM124	6-fam	4	TC	67	ABI3700	34960080	271	166/166	166/166	166/166	166/166	166/166	166/166	166/166	166/166	166/166	176/176
OSR15	6-fam	4			ABI3700	NA	114	108/108	106/106	128/128	106/106	106/106	116/116	106/106	108/108	106/106	-/-
RM273	hex	4	GA	55	ABI3700	NA	200	209/209	209/209	201/201	203/203	209/209	201/201	209/209	209/209	209/209	201/201
RM307	ned	4	(AT)(GT)	55	ABI3700	NA	174	122/122	126/130	128/128	128/128	128/128	128/128	128/128	128/128	128/128	124/124
RM456	6-fam	4	TA	55	ABI3700	NA	232	98/116	100/116	116/116	116/116	98/116	-/-	98/98	120/120	98/116	116/116
RM507	hex	5	AAGA	55	ABI3700	71514	258	127/127	127/127	127/127	127/127	127/127	127/127	127/127	127/127	127/127	127/127
RM153	6-fam	5	GAA	55	ABI3700	167824	201	198/201	198/198	198/198	-/-	201/201	198/198	198/198	201/201	201/201	198/198
RM7373	6-fam	5	CTTT	50	ABI3700	279480	136	133/133	133/133	133/133	133/133	133/133	-/-	133/141	133/133	133/133	133/133
RM1024	ned	5	AC	55	ABI3700	1174375	141	-/-	127/127	139/139	139/139	129/129	139/139	127/127	129/129	129/129	139/139
RM413	ned	5	AG	55	ABI3700	2152404	79	77/77	103/103	77/79	67/69	75/77	77/79	103/103	77/77	75/77	79/79
RM592	ned	5	ATT	55	ABI3700	2736620	270	-/-	222/222	278/278	216/216	276/276	228/228	300/300	276/276	-/-	254/254
RM7444	ned	5	TAAA	55	ABI3700	3299012	155	147/147	147/147	151/151	151/151	147/147	151/151	147/147	147/147	147/147	151/151
RM574	ned	5	GA	55	ABI3700	3390564	155	152/154	148/148	158/158	158/158	156/156	156/156	148/148	156/156	154/154	154/154
RM437	6-fam	5	AG	55	ABI3700	3815948	275	241/247	245/245	259/259	257/257	245/245	259/259	241/241	245/245	237/237	253/255
RM3853	6-fam	5	GA	61	ABI3700	4043914	123	128/128	128/128	144/144	144/144	-/-	120/120	128/128	128/128	120/120	128/128
RM289	ned	5	G(GA)	55	ABI3700	7787118	88	104/104	106/106	86/86	86/86	106/106	-/-	106/106	106/106	106/106	86/86
RM7363	6-fam	5	CTAT	50	ABI3700	17624185	124	98/98	106/106	150/150	106/106	-/-	118/118	-/-	138/138	118/118	118/118
RM6024	6-fam	5	CCG	50	ABI3700	17668564	178	166/166	166/166	166/166	-/-	166/166	175/175	166/166	166/166	166/166	175/175
RM7196	ned	5	ATAG	61	ABI3700	18374503	151	71/71	-/-	71/71	71/71	147/147	-/-	139/147	71/71	71/71	71/71
RM164	ned	5	(GT)TT(GT)	55	ABI3700	19114842	246	254/254	-/-	296/296	256/254	268/268	256/256	260/258	268/268	260/260	266/266
RM459	ned	5	CTAC	55	ABI3700	20155983	63	-/-	-/-	65/65	65/65	-/-	61/61	-/-	-/-	-/-	61/61
RM3663	hex	5	GA	55	ABI3700	21281751	125	123/123	123/123	123/123	123/123	123/123	123/123	125/125	123/123	125/125	123/123
RM173	hex	5	GA	67	ABI3700	21623805	186	189/189	189/189	185/185	185/185	189/189	185/185	189/189	189/189	189/189	185/185
RM534	6-fam	5	CGC	55	ABI3700	23924944	156	152/152	152/152	152/152	152/152	152/152	152/152	152/152	152/152	-/-	164/164
RM7081	6-fam	5	ACCA	50	ABI3700	24441878	89	81/81	81/81	81/81	85/85	89/89	85/85	81/81	81/81	81/81	85/85
RM7446	ned	5	TAAA	55	ABI3700	24932863	188	198/206	198/198	198/198	194/194	198/198	198/198	198/198	206/206	198/198	150/150
RM178	ned	5	(GA)(AG)	67	ABI3700	25081202	117	116/118	118/118	118/118	116/116	116/116	116/116	116/116	118/118	116/116	116/116
RM7452	ned	5	TAAT	55	ABI3700	26783037	94	85/93	93/93	81/85	89/93	89/93	93/93	89/93	93/93	93/93	93/93
RM274	hex	5	(GA)(CGG)	55	ABI3700	26827527	150	160/160	160/160	160/160	148/148	148/148	148/148	148/148	160/160	160/160	148/148

RM7271	hex	5	ATCT	50	ABI3700	26827917	215	195/195	195/195	195/195	195/195	195/195	195/207	195/195	195/195	195/195	-/-
RM7653	ned	5	TTTC	50	ABI3700	27202292	121	104/120	120/120	120/120	104/104	104/104	120/120	104/104	120/120	104/104	120/120
RM26	ned	5	GA	55	ABI377	27321395	104	104/114	114/114	110/110	104/104	104/104	104/104	104/104	114/114	104/104	104/104
RM7423	6-fam	5	GGAT	55	ABI3700	27828955	204	199/199	199/199	-/-	199/199	183/199	203/203	179/199	199/199	199/199	203/203
RM31	ned	5	GA	55	ABI3700	28453105	140-164	138/144	138/138	140/140	140/140	140/140	148/148	138/138	156/156	138/138	146/146
OG32	ned	5	AG	56	ABI3700	NA	236	224/224	224/224	234/234	232/232	224/224	234/234	224/224	224/224	224/224	234/234
OG47	6-fam	5	(TC)C(TC)(TGTC)	56	ABI3700	NA	190	201/201	201/201	201/201	201/201	201/201	201/201	201/201	201/201	201/201	201/201
OG61	6-fam	5	AG	56	ABI3700	NA	96-154	107/107	135/135	133/133	107/107	105/105	95/95	107/107	137/137	107/107	97/97
OG72	hex	5	AG	50	ABI3700	NA	128	128/128	118/118	130/130	128/128	116/116	122/122	128/128	116/116	118/118	122/122
OG92	ned	5	AG	56	ABI3700	NA	101	115/125	115/115	123/127	103/103	99/99	103/103	115/115	115/115	115/115	-/-
RM13	ned	5	(GA)(GA)	55	ABI3700	NA	131-151	152/152	152/152	-/-	128/128	140/140	126/126	152/152	138/138	138/138	126/126
RM161	ned	5	AG	61	ABI3700	NA	187	179/179	179/179	179/179	179/179	165/179	179/179	179/179	179/179	179/179	179/179
RM334	6-fam	5	CTT	55	ABI3700	NA	148	143/161	143/143	-/-	152/158	152/152	152/152	143/143	-/-	152/152	152/152
RM7158	6-fam	6	ATAC	50	ABI3700	216356	197	171/195	199/199	-/-	195/195	167/167	195/195	171/171	167/167	-/-	135/135
RM7399	6-fam	6	GATC	50	ABI3700	1047728	179	177/177	173/173	177/177	173/173	177/177	177/177	173/173	161/173	173/173	177/177
OSR19	hex	6	CT	56	ABI3700	1764586	194	121/121	119/119	121/121	121/121	121/121	107/107	121/121	123/123	123/123	109/109
RM510	6-fam	6	GA	55	ABI3700	2831543	122	110/120	-/-	114/118	110/110	118/118	118/118	110/110	110/110	110/110	120/120
RM204	ned	6	CT	55	ABI3700	3168425	104-194	103/103	103/103	171/171	135/135	171/171	171/171	103/103	105/105	105/105	165/165
RM225	ned	6	CT	55	ABI3700	3416638	122-142	132/142	142/142	132/132	142/142	132/132	132/132	142/142	142/142	140/140	132/132
RM6119	ned	6	CGC	50	ABI3700	4439561	188	128/128	128/128	128/128	-/-	128/128	179/179	128/128	-/-	200/200	-/-
RM3370	ned	6	CT	55	ABI3700	6640896	137	139/139	139/139	129/129	147/147	141/141	-/-	139/139	139/139	133/133	135/135
RM7023	6-fam	6	AAAG	55	ABI3700	6971160	180	169/169	169/169	177/177	169/169	177/177	177/177	169/169	177/177	173/173	177/177
RM7213	6-fam	6	ATAG	55	ABI3700	10448510	211	186/210	206/222	210/210	210/210	214/214	214/214	210/210	214/214	210/210	210/210
RM3330	6-fam	6	CT	50	ABI3700	10907997	145	128/142	118/118	130/130	128/128	116/116	122/122	128/128	116/116	118/118	122/122
RM7583	hex	6	TCTT	55	ABI3700	12293342	160	136/136	136/136	136/136	133/136	136/136	133/136	133/136	136/136	-/-	-/-
RM7551	ned	6	TATT	50	ABI3700	20601481	150	150/150	150/150	150/150	150/150	150/150	150/150	150/150	150/150	-/-	150/150
RM7579	6-fam	6	TCTG	55	ABI3700	23119353	118	116/116	116/116	116/116	116/116	116/116	116/116	116/116	120/120	116/116	116/116
RM7269	hex	6	ATCT	55	ABI3700	23295433	142	-/-	-/-	155/155	155/155	155/155	155/155	135/135	-/-	143/143	139/139
RM7434	ned	6	GTAT	50	ABI377	23552227	143	119/119	143/143	143/143	123/123	119/119	123/123	119/119	119/119	119/119	143/143

RM162	ned	6	AC	61	ABI3700	23652879	229	209/209	209/209	241/241	203/203	209/209	203/203	209/209	209/209	207/207	225/225
RM5957	6-fam	6	CAG	55	ABI3700	24138891	90	184/184	184/184	184/184	184/184	184/184	184/184	184/184	184/184	184/184	184/184
RM7329	hex	6	CATA	50	ABI3700	25104452	234	220/220	200/200	164/164	164/164	188/188	164/164	204/204	164/164	224/224	-/-
RM7309	ned	6	ATTT	55	ABI3700	25914707	154	148/148	148/148	152/152	-/-	152/152	152/152	148/148	148/148	148/148	152/152
RM3	ned	6	(AG)A(GA)	55	ABI3700	26869678	118-148	-/-	104/104	82/82	82/82	104/104	82/82	104/104	104/104	104/104	82/82
RM30	ned	6	(AG)A(GA)	55	ABI3700	27252300	82-106	104/104	104/104	126/126	126/126	104/104	104/104	104/104	134/134	104/104	-/-
RM7555	ned	6	TATT	50	ABI3700	29569773	141	75/75	75/75	-/-	111/111	75/75	115/115	75/75	75/75	75/75	111/111
RM412	hex	6	GA	55	ABI3700	30327854	198	186/186	186/186	170/184	168/184	186/186	188/188	172/186	186/186	-/-	198/198
RM345	6-fam	6	CTT	55	ABI3700	30864845	153	167/167	167/167	161/161	161/161	167/167	167/167	167/167	167/167	167/167	155/155
RM103	hex	6	GAA	55	ABI3700	30889200	336	260/260	-/-	260/260	260/260	260/260	260/260	260/260	260/260	260/260	260/260
RM133	6-fam	6	CT	61	ABI3700	NA	230	227/227	-/-	225/227	239/239	227/227	-/-	227/227	227/227	225/225	227/227
RM217	6-fam	6	CT	55	ABI3700	NA	120-166	142/142	142/142	142/142	142/142	142/142	142/142	142/142	162/162	142/140	142/142
RM454	hex	6	GCT	55	ABI3700	NA	268	269/269	269/269	266/266	266/266	269/269	266/266	269/269	272/272	266/266	290/290
RM7454	6-fam	7	TACA	55	ABI3700	1102352	99	103/103	103/103	103/103	95/95	95/95	95/95	95/95	103/103	-/-	95/95
RM7012	ned	7	AAAG	50	ABI3700	2557838	89	86/86	86/86	86/86	86/86	86/86	86/86	86/86	86/86	86/86	86/86
RM5055	hex	7	TA	55	ABI3700	2682247	162	102/102	102/102	102/102	102/102	102/102	142/142	102/102	102/102	102/102	142/142
RM7418	hex	7	GCTT	61	ABI377	3220950	88	78/78	-/-	-/-	78/78	78/78	86/86	78/78	78/78	86/86	-/-
RM1243	hex	7	AG	50	ABI3700	3587869	157	142/142	142/142	-/-	142/142	142/142	156/156	142/142	142/142	142/142	156/156
RM7479	6-fam	7	TATC	55	ABI3700	4167769	216	157/157	197/197	157/157	157/157	193/193	165/177	197/197	157/157	157/157	-/-
RM180	hex	7	ATT	55	ABI3700	5768455	110	108/108	186/186	108/108	108/108	186/186	108/108	108/186	108/108	108/108	108/108
RM7161	6-fam	7	ATAC	50	ABI3700	5929101	197	200/200	200/200	200/200	200/200	200/200	-/-	200/200	-/-	196/196	196/196
RM1253	hex	7	AG	50	ABI3700	7001046	175	162/162	162/162	162/162	166/166	162/162	166/166	162/162	162/162	162/162	170/170
RM7153	6-fam	7	ATAC	55	ABI3700	8640652	154	140/140	140/140	140/140	156/156	140/140	152/152	140/140	140/140	140/140	152/152
RM7074	6-fam	7	ACAT	61	ABI3700	9010076	168	-/-	-/-	-/-	157/157	-/-	157/157	-/-	157/157	-/-	165/165
RM214	hex	7	CT	55	ABI3700	12782791	108-150	112/112	112/112	112/112	146/146	112/112	138/138	112/112	112/112	112/112	148/148
RM7273	hex	7	ATCT	55	ABI3700	13377137	155	181/185	185/185	185/185	137/137	185/185	153/153	185/185	181/181	185/185	153/153
RM7338	hex	7	CATC	55	ABI3700	15335246	164	160/160	160/160	164/164	144/144	160/160	164/164	160/160	160/160	-/-	164/164
RM500	hex	7	AAG	55	ABI3700	15858082	259	241/241	250/250	253/253	256/256	250/250	256/256	253/253	241/241	250/250	256/256
ARM7110	6-fam	7	AGAT	50	ABI3700	16800718	153	-/-	166/166	154/154	238/238	166/166	150/150	166/166	158/222	166/166	150/150

RM7110	6-fam	7	AGAT	55	ABI3700	16800718	176	183/191	191/191	179/179	191/191	191/191	175/175	191/191	183/183	191/191	175/175
RM1135	6-fam	7	AG	55	ABI3700	16879457	148	139/139	139/139	145/145	179/179	139/139	147/147	139/139	139/139	147/147	147/147
RM445	hex	7	AG	55	ABI3700	17409772	251	246/246	256/256	254/254	256/256	246/246	248/248	256/256	258/258	256/256	248/248
RM533	ned	7	CT	55	ABI3700	17459607	257	260/260	-/-	258/258	258/258	256/256	252/252	260/260	248/256	258/258	256/256
RM418	6-fam	7	ATT	55	ABI3700	18131530	283	294/309	294/294	279/279	309/309	306/306	294/294	294/294	294/294	294/294	285/285
RM11	ned	7	GA	55	ABI3700	19204350	121-147	143/143	143/143	129/129	139/139	137/137	129/129	143/143	143/143	143/143	123/123
RM7087	ned	7	AGAT	50	ABI3700	19304865	114	101/101	101/101	101/101	101/101	101/101	101/101	101/101	101/101	101/101	113/113
RM560	ned	7	CT	55	ABI3700	19530534	239	235/235	237/237	-/-	237/237	267/267	237/237	237/237	237/237	237/237	239/239
RM3404	ned	7	CT	50	ABI3700	20053345	206	178/178	178/178	186/186	186/186	178/178	186/186	178/178	178/178	188/188	206/206
RM182	ned	7	AT	67	ABI3700	21451927	346	329/329	329/329	331/331	331/331	329/329	331/331	331/331	331/331	331/331	331/331
RM336	hex	7	CTT	55	ABI3700	21818658	145	151/151	193/193	166/166	151/151	193/193	148/148	151/151	166/166	157/157	148/148
RM455	6-fam	7	TTCT	55	ABI3700	22298054	131	124/124	124/124	128/128	124/124	124/124	128/128	124/124	128/128	128/128	128/128
RM7237	hex	7	ATAG	55	ABI3700	23176063	202	180/240	252/252	168/172	256/256	180/252	172/256	252/252	180/240	180/252	192/256
RM7441	hex	7	GTGG	61	ABI3700	24935379	199	192/204	188/188	200/200	188/188	188/188	192/192	192/192	192/192	192/192	192/192
RM234	6-fam	7	CT	55	ABI3700	25420132	126-164	152/152	152/152	132/132	152/152	152/152	140/140	152/152	152/152	152/152	132/132
RM18	ned	7	(GA)AA(GA)AG	55	ABI377	25600022	137-165	157/157	145,27	157/157	157/157	155/155	155/155	157/157	155/155	155/155	155/155
RM3555	ned	7	GA	50	ABI377	27838042	154	142/142	142/142	144/144	144/144	144/144	152/152	142/142	142/142	142/142	152/152
RM248	hex	7	CT	55	ABI3700	29339144	72-102	91/95	105/105	81/81	79/79	101/101	81/81	101/101	91/91	91/91	81/81
RM420	6-fam	7	AAAT	55	ABI3700	29430524	197	184/184	184/184	184/184	180/180	184/184	196/196	184/184	184/184	184/184	180/180
RM10	hex	7	GA	55	ABI3700	NA	159-177	159/159	159/159	169/169	159/159	159/159	159/161	159/159	171/171	171/171	169/169
RM125	6-fam	7	GCT	55	ABI3700	NA	127	136/136	112/112	-/-	112/121	121/121	112/112	112/112	103/136	-/-	112/112
RM2	6-fam	7	(GA)A(GA)	55	ABI3700	NA	119-153	202/220	199/220	-/-	202/202	220/220	145/145	220/220	220/220	220/220	-/-
RM481	ned	7	CAA	55	ABI3700	NA	169	175/175	160/160	142/142	142/142	148/148	166/166	163/163	148/148	151/151	166/166
RM505	6-fam	7	CT	55	ABI3700	NA	199	-/-	178/178	200/200	178/178	178/178	200/200	200/200	200/200	200/200	196/196
RM6810	hex	7	TCT	50	ABI3700	NA	71	70/70	64/64	70/70	64/64	61/61	61/64	70/70	70/70	70/70	61/61
RM408	6-fam	8	CT	55	ABI3700	119997	128	118/118	118/118	124/124	118/118	118/118	118/118	118/118	118/118	-/-	126/126
RM7034	6-fam	8	AAAT	50	ABI3700	145364	149	121/121	121/121	-/-	121/121	121/121	121/121	121/121	85/85	121/121	121/121
RM6925	ned	8	TTA	55	ABI3700	641682	271	132/132	168/168	162/162	168/168	168/168	-/-	132/132	186/186	-/-	-/-
OSR34	hex	8	GCG	55	ABI3700	677702	151	126/126	150/150	135/135	-/-	150/150	144/144	126/126	126/126	126/126	150/150

RM152	hex	8	GGC	55	ABI3700	677702	151	127/155	149/149	135/135	143/143	149/149	143/143	127/127	127/155	127/155	149/149
RM6863	ned	8	TGC	55	ABI3700	2005990	190	173/173	176/176	179/179	179/179	176/176	-/-	176/176	176/176	173/173	-/-
RM38	6-fam	8	GA	55	ABI3700	2109541	236-278	241/247	245/245	259/259	257/257	245/245	257/257	241/241	245/245	237/237	255/255
RM25	ned	8	GA	55	ABI3700	4372182	130-160	-/-	135/135	121/141	121/141	135/135	121/139	135/135	145/145	145/145	121/141
RM7080	ned	8	ACCA	55	ABI3700	4694609	150	-/-	137/137	149/149	145/145	137/137	145/145	137/137	137/137	-/-	145/145
RM7057	6-fam	8	AATT	50	ABI3700	5849990	177	163/163	163/163	163/163	163/163	163/163	163/163	163/163	175/175	-/-	175/175
RM7267	hex	8	ATCT	55	ABI3700	10181514	153	120/120	120/120	120/120	156/156	160/160	184/184	164/164	120/120	164/164	184/184
RM7027	6-fam	8	AAAT	55	ABI3700	15714757	85	72/76	76/76	84/84	76/84	72/76	84/84	72/76	76/76	76/76	84/84
RM7285	hex	8	ATCT	55	ABI3700	18756384	181	157/157	157/157	177/177	169/169	149/157	169/169	149/157	157/157	157/157	181/181
RM3153	6-fam	8	CA	55	ABI3700	18982448	154	140/140	140/140	140/154	140/152	160/160	140/140	134/150	140/140	140/140	140/140
RM42	6-fam	8	(AG)(AG)T(GA)	55	ABI3700	19964404	166-176	136/164	136/164	136/160	136/162	136/164	136/162	136/164	136/156	164/164	160/160
RM7049	6-fam	8	AATA	50	ABI3700	20807910	159	135/135	135/135	159/159	147/147	135/135	147/147	135/135	135/135	135/135	155/155
RM7580	ned	8	TCTG	55	ABI3700	20821349	210	202/202	202/202	210/210	210/210	206/206	198/198	202/202	202/202	202/202	210/210
RM284	6-fam	8	GA	55	ABI3700	21137914	150	140/140	104/104	146/146	146/146	140/140	142/142	140/140	142/142	140/140	146/146
RM7556	6-fam	8	TCAC	50	ABI3700	22202567	131	120/120	120/120	128/128	128/128	108/108	128/128	120/120	120/120	120/120	128/128
RM210	ned	8	CT	55	ABI3700	22341708	121-163	114/114	114/114	114/114	114/114	114/114	114/114	114/114	114/114	114/114	114/114
RM5353	6-fam	8	TC	50	ABI3700	24114592	177	177/177	179/179	-/-	177/177	177/177	177/177	177/177	177/177	-/-	177/177
RM256	hex	8	CT	55	ABI3700	24140506	104	105/105	-/-	105/105	105/105	105/105	105/105	-/-	105/105	105/105	105/105
RM80	ned	8	TCT	55	ABI3700	24474208	123	113/113	-/-	131/131	146/146	128/128	101/101	122/122	134/134	134/134	119/119
RM447	hex	8	CTT	55	ABI3700	26542515	111	104/116	104/104	113/113	110/110	116/116	110/110	116/116	104/104	116/116	110/110
RM6075	hex	8	CCT	50	ABI3700	27764004	141	137/140	137/140	140/140	140/140	137/140	140/140	137/140	137/140	137/140	140/140
RM7400	hex	8	GATG	55	ABI3700	27892952	127	122/122	122/122	-/-	-/-	122/122	126/126	122/122	122/122	126/126	126/126
RM477	ned	8	AATT	55	ABI3700	28070747	223	217/217	217/217	221/221	221/221	217/217	221/221	217/217	217/217	217/217	221/221
OSR30	ned	8		56	ABI3700	NA	112	123/123	117/117	103/103	111/111	117/117	113/113	119/119	123/123	123/123	-/-
RM433	ned	8	AG	55	ABI3700	NA	224	224/224	224/224	-/-	222/222	222/222	224/224	224/224	224/224	222/222	222/222
RM44	6-fam	8	GA	55	ABI3700	NA	99	-/-	102/102	92/92	108/108	102/102	108/108	102/102	102/102	102/102	-/-
RM316	hex	9	(GT)(TG)(TTG)(TG)	55	ABI3700	1022756	195	194/197	197/197	164/164	164/164	188/194	164/164	197/197	170/203	200/200	-/-
RM444	6-fam	9	AT	55	ABI3700	5925016	162	167/167	209/209	161/161	161/161	167/167	159/159	-/-	-/-	-/-	159/159
RM7212	6-fam	9	ATAG	55	ABI3700	6546861	151	136/148	148/148	144/144	144/144	168/168	148/148	148/148	128/128	132/132	148/148

RM239	6-fam	10)AG)TG(AG)	55	ABI3700	9216202	142-146	143/143	143/143	141/141	143/143	141/141	117/117	143/143	143/143	143/143	139/139
RM4455	hex	10	TA	55	ABI3700	11221543	116	118/118	154/154	138/138	134/134	148/148	160/160	152/152	132/132	-/-	114/114
RM184	6-fam	10	CA	55	ABI3700	16100732	219	202/202	202/202	202/202	202/202	202/202	202/202	202/202	202/202	202/202	214/214
RM1937	6-fam	10	AT	55	ABI3700	17483480	120	102/190	190/190	190/190	-/-	102/102	100/100	102/102	102/102	198/198	116/200
RM171	6-fam	10	GATG	55	ABI3700	18790632	328	323/343	343/343	343/343	343/343	343/343	343/343	323/323	347/347	323/323	327/327
RM3019	6-fam	10	AT	55	ABI3700	19314204	198	117/117	117/117	159/159	-/-	117/117	141/141	117/117	119/119	117/117	199/199
RM7300	ned	10	ATTA	50	ABI3700	19484242	102	100/108	108/108	108/108	108/108	108/108	100/100	100/100	100/100	100/100	100/100
RM5352	hex	10	TC	55	ABI3700	20672962	169	159/159	-/-	167/167	169/169	169/169	159/159	169/169	159/159	185/185	159/169
RM484	ned	10	AT	55	ABI3700	20808566	299	293/293	-/-	291/291	293/293	293/293	297/297	293/293	293/293	-/-	297/297
RM591	6-fam	10	AC	55	ABI3700	22451229	258	232/232	242/242	212/212	214/214	242/242	250/250	268/268	-/-	242/242	254/254
OG26	hex	10	AG	56	ABI3700	NA	106-116	99/99	99/99	105/105	105/105	99/99	111/111	99/99	99/99	99/99	-/-
RM222	6-fam	10	CT	55	ABI3700	NA	199-221	204/204	226/226	222/222	204/204	208/208	202/202	214/214	208/208	216/216	198/198
RM269	hex	10	GA	55	ABI3700	NA	182	183/183	183/183	187/187	187/187	183/183	185/185	183/183	183/183	185/185	185/185
RM271	ned	10	GA	55	ABI3700	NA	90	100/102	100/100	88/88	88/88	102/102	88/88	100/100	-/-	-/-	88/88
RM181	6-fam	11	(CT)(AT)	67	ABI3700	202113	240	266/266	266/266	270/270	270/270	-/-	270/270	264/264	266/266	266/266	270/270
RM7173	6-fam	11	ATAG	55	ABI3700	442216	120	109/117	117/117	117/117	117/117	117/117	117/117	117/117	117/117	117/117	117/117
RM7453	ned	11	TAAT	55	ABI3700	933299	172	155/155	155/155	175/175	-/-	155/155	-/-	155/155	155/155	155/155	171/171
RM7203	6-fam	11	ATAG	55	ABI3700	1083931	106	89/89	89/89	105/105	105/105	89/89	105/105	89/89	89/89	89/89	105/105
RM3668	6-fam	11	GA	50	ABI3700	1463399	101	89/89	89/89	107/107	93/93	89/89	109/109	89/89	89/89	89/89	97/97
RM7557	ned	11	TCAC	50	ABI3700	2327475	177	176/180	180/180	-/-	176/176	172/172	176/176	180/180	180/180	176/180	176/176
RM5599	6-fam	11	AAC	55	ABI3700	3808934	148	128/128	128/128	143/143	143/143	128/128	143/143	122/122	122/122	122/122	143/143
RM552	hex	11	TAT	55	ABI3700	4817484	195	178/178	178/178	175/214	175/226	178/178	175/175	172/178	178/178	175/175	175/193
RM4504	ned	11	TA	55	ABI3700	5399898	127	102/102	102/102	102/102	102/102	102/102	102/102	102/102	102/102	102/102	102/102
RM120	6-fam	11	(GA)TAG(ATC)		ABI3700	5727768	173	165/169	165/165	167/167	-/-	165/165	167/167	165/165	165/165	167/167	167/167
RM116	ned	11	CT	55	ABI3700	5740642	258	276/280	276/276	278/278	280/280	276/276	278/278	276/276	276/276	278/278	278/278
RM536	ned	11	CT	55	ABI3700	8891825	243	228/228	228/228	244/244	234/234	228/228	244/244	228/228	226/226	226/226	246/246
RM202	hex	11	CT	55	ABI3700	8908399	189	163/163	183/183	175/175	183/183	183/183	175/175	183/183	187/187	187/187	177/177
RM7283	hex	11	ATCT	55	ABI3700	9024217	183	146/190	142/146	178/178	186/186	142/146	190/190	142/146	154/154	-/-	182/182
RM7391	hex	11	GATA	55	ABI3700	9840093	193	229/229	229/229	193/193	193/193	193/229	197/197	229/229	229/229	229/229	193/193

RM7463	ned	11	TACA	55	ABI3700	10095283	187	217/217	217/217	185/185	-/-	217/217	189/189	217/217	217/217	217/217	185/185
RM7120	6-fam	11	ATAA	55	ABI3700	11685002	153	150/150	150/150	150/150	150/150	150/150	150/150	150/150	158/158	158/158	-/-
RM3428	6-fam	11	CT	55	ABI3700	13366615	156	139/139	139/139	157/157	157/157	139/139	153/153	139/139	141/141	141/141	153/153
RM7226	hex	11	ATAG	55	ABI3700	13936515	163	179/179	179/179	151/155	155/155	179/179	163/163	179/179	151/151	151/151	163/163
RM7303	6-fam	11	ATTA	55	ABI3700	16396823	131	128/128	128/128	-/-	128/144	128/128	128/128	128/128	128/128	128/128	128/128
RM287	ned	11	GA	55	ABI3700	16610716	108	112/112	114/114	102/102	102/102	114/114	104/104	114/114	114/114	112/112	104/104
RM7275	hex	11	ATCT	50	ABI3700	16880270	199	185/185	-/-	-/-	197/197	221/221	201/201	221/221	221/221	185/185	197/197
RM209	6-fam	11	CT	55	ABI3700	17771755	108-164	131/131	-/-	133/133	159/159	131/131	123/123	131/131	131/131	149/149	125/125
RM229	hex	11	(TC)(CT)(CT)	55	ABI3700	18372685	90-130	121/121	121/121	129/129	125/125	121/121	129/129	121/121	121/121	115/115	129/129
RM5349	6-fam	11	TC	55	ABI3700	18985185	123	-/-	110/110	114/114	114/114	110/110	120/120	110/110	110/110	-/-	120/120
RM206	hex	11	CT	55	ABI3700	21626840	127-201	167/167	167/167	131/131	131/131	167/167	171/171	167/167	145/145	167/167	171/171
RM7277	hex	11	ATCT	55	ABI3700	23829259	148	198/198	162/162	162/162	102/102	-/-	-/-	-/-	-/-	162/162	162/162
RM7170	ned	11	ATAG	55	ABI3700	24420094	177	177/177	173/173	173/173	173/173	173/173	173/173	173/173	173/173	177/177	177/177
RM7163	6-fam	11	ATAC	55	ABI3700	25895169	200	142/142	142/142	142/142	-/-	142/142	142/142	142/142	142/142	142/142	142/142
RM7221	hex	11	ATAG	55	ABI3700	26421766	183	143/143	183/183	183/183	183/183	183/183	167/183	183/183	183/183	183/183	183/183
RM224	ned	11	(AAG)(AG)	55	ABI3700	26796502	124-159	142/142	157/157	157/157	157/157	145/145	121/121	157/157	154/154	157/157	121/121
RM7654a	hex	11	TTTC	55	ABI3700	27159528	173	-/-	178/178	186/186	178/178	178/178	186/186	178/178	178/178	186/186	194/194
RM7654b	ned	11	TTTC	55	ABI3700	27159528	216	-/-	220/220	220/232	220/220	220/220	220/220	220/220	220/220	-/-	220/220
RM7228	hex	11	ATAG	50	ABI3700	27707098	202	-/-	-/-	205/205	205/205	221/221	205/205	-/-	233/233	-/-	201/201
RM144	ned	11	ATT	55	ABI3700	28173902	237	220/220	244/244	244/244	253/253	244/244	220/220	220/220	220/220	220/220	226/226
OG7	hex	11	AG	56	ABI3700	NA	162	153/153	153/153	-/-	157/157	153/153	161/161	153/153	153/153	147/147	161/161
RM139	hex	11	CT	55	ABI3700	NA	386	360/360	-/-	350/350	350/350	360/360	350/350	360/360	360/360	360/360	350/350
RM187	hex	11	(AT)(GT)	55	ABI3700	NA	146	168/168	168/168	150/150	158/158	168/168	-/-	168/168	-/-	168/168	-/-
RM21	6-fam	11	GA	55	ABI3700	NA	140	128/128	128/128	152/152	150/150	128/128	138/138	128/128	128/128	162/162	138/138
RM254	6-fam	11	(TC)ATT(CT)	55	ABI3700	NA	165	159/167	159/159	169/169	161/161	159/159	161/161	159/159	-/-	-/-	157/157
RM7315	hex	12	CACG	55	ABI3700	2182044	189	172/172	172/172	188/188	188/188	172/172	188/188	172/172	172/172	172/172	188/188
RM453	ned	12	TC	55	ABI3700	2690459	178	172/176	172/172	172/172	172/172	172/172	172/172	172/172	172/172	172/172	172/172
RM247	ned	12	CT	55	ABI377	3185544	129-175	135/135	135/135	152/152	161/161	135/135	157/157	135/135	135/135	135/135	157/157
RM7448	ned	12	TAAT	55	ABI3700	3520946	198	-/-	-/-	197/197	197/197	-/-	197/197	-/-	-/-	-/-	197/197

RM7619	ned	12	TGTA	50	ABI3700	4828887	196	155/155	155/155	151/191	151/187	155/155	151/191	155/155	155/155	155/155	195/195
RM3455	ned	12	CT	55	ABI3700	4919671	92	-/-	-/-	102/102	102/102	102/102	102/102	-/-	102/102	-/-	90/90
RM7119	hex	12	AGTT	55	ABI3700	6694741	152	108/108	108/108	108/142	108/142	104/108	108/142	104/108	108/108	108/108	108/142
RM101	ned	12	CT	55	ABI3700	8828359	324	260/260	262/262	320/320	320/320	262/262	300/300	262/262	262/262	260/260	300/300
RM7102	6-fam	12	AGAT	55	ABI3700	13258404	169	-/-	-/-	173/173	-/-	185/185	165/165	173/173	-/-	69/69	-/-
RM1261	ned	12	AG	50	ABI3700	17578154	167	163/163	-/-	155/163	155/155	171/171	165/165	163/163	169/169	163/163	165/165
RM7018	ned	12	AAAG	50	ABI3700	22230170	171	169/169	161/161	117/117	117/157	161/161	117/157	169/169	169/169	161/161	117/169
RM3226	hex	12	CT	50	ABI3700	24144163	99	94/100	100/100	98/98	100/100	98/98	100/100	98/98	100/100	98/98	98/98
RM235	6-fam	12	CT	55	ABI3700	26107904	86-134	-/-	-/-	98/98	98/98	130/130	98/98	80/80	80/80	80/80	98/98
RM12	ned	12	GA	55	ABI3700	26954668	184	157/183	183/183	157/157	157/157	157/157	157/157	183/183	159/159	183/183	167/167
RM17	ned	12	GA	55	ABI3700	26954668	184	-/-	-/-	-/-	157/157	157/157	197/197	183/183	159/159	-/-	167/167
RM4552	6-fam	12	TA	55	ABI3700	27019670	167	173/179	179/179	177/177	171/177	173/179	203/203	171/179	179/179	179/179	167/167
RM7558	hex	12	TCAG	55	ABI3700	27085614	149	141/141	141/141	145/145	145/145	141/141	145/145	141/141	141/141	141/141	149/149
RM19	6-fam	12	ATC	55	ABI3700	NA	226	244/244	242/242	212/212	212/212	234/234	212/212	244/244	244/244	244/244	212/212
RM270	ned	12	GA	55	ABI3700	NA	120	106/106	106/106	108/108	104/104	106/106	108/108	106/106	106/106	106/106	116/116
RM277	hex	12	GA	55	ABI3700	NA	118	115/119	119/119	-/-	115/115	119/119	115/119	115/115	119/119	115/119	115/119
RM415	hex	12	AT	55	ABI3700	NA	227	224/236	222/222	-/-	232/238	224/224	238/238	224/224	224/238	224/224	226/240
RM238	ned	1 e 6	CT	55	ABI3700	NA	150	-/-	137/137	-/-	-/-	149/149	131/131	145/145	149/149	-/-	155/155
RM325B	hex	6, 7 e 8	(CAT)TAG(CAT)	55	ABI3700	NA	200-230	210/210	210/210	210/210	210/210	210/210	210/210	210/210	210/210	210/210	-/-
OG23	ned	NM		56	ABI3700	NA	262	-/-	-/-	229/229	231/231	-/-	207/207	-/-	-/-	211/211	207/207
OG43	6-fam	NM		56	ABI3700	NA	80	86/86	92/92	80/80	-/-	86/86	80/80	90/90	86/86	90/90	-/-
OG56	hex	NM		56	ABI3700	NA	134	130/130	130/130	122/126	130/130	130/130	132/132	-/-	138/138	130/130	132/132
OG78	ned	NM		56	ABI3700	NA	78	58/58	58/58	64/64	-/-	78/78	78/78	58/58	58/58	58/58	76/76
OG82	6-fam	NM		56	ABI3700	NA	118-122	122/122	116/116	122/122	122/122	116/116	122/122	122/122	116/116	-/-	122/122
OG84	6-fam	NM		56	ABI3700	NA	116	119/119	119/119	119/119	119/119	119/119	119/119	119/119	119/119	119/119	119/119
OG86	6-fam	NM		56	ABI3700	NA	108	116/116	116/116	-/-	116/116	116/116	116/116	116/116	116/116	116/116	116/116
OG96	ned	NM		56	ABI3700	NA	127	114/114	114/114	122/126	126/126	114/114	126/126	128/128	114/114	126/126	126/126
RM6822	hex	NM	TCT	50	ABI3700	NA	118	103/103	103/103	-/-	121/121	121/121	115/115	103/103	103/103	103/103	115/115
RM7272	hex	NM	ATCT	50	ABI3700	NA	193	127/131	127/127	127/127	183/183	127/127	179/179	127/127	127/127	127/127	179/179

RM7276	hex	NM	ATCT	55	ABI3700	NA	128	110/114	-/-	110/114	114/114	110/114	114/114	114/118	110/114	110/114	122/126
RM7411	ned	NM	GCAC	50	ABI3700	NA	201	187/187	187/187	187/187	199/199	187/187	199/199	187/187	187/187	187/187	199/199
RM7504	ned	NM	TATC	55	ABI3700	NA	232	235/235	235/235	247/247	243/243	223/223	247/247	235/235	223/223	235/235	231/231
RM7652	ned	NM	TTTC	55	ABI3700	NA	216	211/275	211/211	211/227	219/219	211/211	235/279	211/211	-/-	211/283	215/215
RM2848	6-fam	todos	AT	55	ABI3700	NA	262	261/261	261/261	261/261	265/265	261/261	261/261	265/265	263/263	261/261	261/261

Loco	Fluorescencia	Cr	Motivo	Ta°C	Modelo seq	Mapafísico (pb)	pb -esp	OryLhanos4	OryLhanos5	Oryzica1	Primavera	Puteca	Rantulasi	RS16	Zenith
RM495	6-fam	1	CTG	55	ABI3700	216000	159	146/146	146/146	146/146	158/158	158/158	158/158	155/155	158/158
RM3252	ned	1	CT	55	ABI3700	301947	172	225/225	173/173	217/217	169/169	173/173	173/173	153/153	-/-
RM7536	6-fam	1	TATG	50	ABI3700	1667714	102	98/98	94/98	-/-	98/98	98/98	94/94	94/94	98/98
RM7278	hex	1	ATCT	55	ABI3700	1793925	175	194/194	194/194	198/198	194/194	238/238	170/170	-/-	234/234
RM3740	6-fam	1	GA	50	ABI3700	2800091	135	121/121	121/121	121/121	123/123	119/119	125/125	127/127	119/121
RM7383	6-fam	1	GAAG	55	ABI3700	3483480	176	170/170	170/170	170/170	158/158	158/158	174/174	154/158	158/158
RM220	ned	1	CT	55	ABI3700	4424458	127	119/119	105/105	119/119	105/105	105/105	109/109	113/113	105/105
RM1	ned	1	AG	55	ABI3700	4633595	113	110/110	86/86	104/104	86/86	88/88	76/76	104/104	88/88
RM283	ned	1	GA	55	ABI3700	4885944	151	151/151	147/147	151/151	147/147	147/147	-/-	-/-	147/147
RM7086	ned	1	AGAC	55	ABI3700	6192761	140	146/146	146/146	146/146	158/158	158/158	158/158	166/166	158/158
RM5359	hex	1	TC	50	ABI3700	7178539	198	193/193	191/191	191/191	199/199	191/191	199/199	185/185	191/197
RM259	ned	1	CT	55	ABI3700	7443429	152-172	154/154	156/156	152/152	170/170	162/162	160/160	-/-	172/172
RM3412	6-fam	1	CT	55	ABI3700	11566961	211	211/211	211/209	229/229	213/213	213/213	209/209	-/-	213/213
RM7075	hex	1	ACAT	50	ABI3700	15101795	155	-/-	147/147	123/123	147/147	147/147	99/99	99/99	163/163
RM24	hex	1	GA	55	ABI3700	18973726	152-198	185/185	185/185	185/185	185/185	185/185	-/-	185/185	185/185
RM5638	ned	1	AAG	55	ABI3700	20932038	203	207/207	207/207	231/231	201/201	201/201	207/207	-/-	201/201
RM7405	ned	1	GATG	55	ABI3700	21899261	109	109/109	109/109	93/93	109/109	109/109	-/-	93/93	109/109
RM9	ned	1	(GA)GT(GA)	55	ABI3700	23322266	124-194	181/181	181/181	125/125	185/185	185/185	135/135	-/-	181/181
RM5	ned	1	GA	55	ABI3700	23968577	96-130	114/114	114/114	112/112	114/114	114/114	-/-	94/94	116/116
RM7124	6-fam	1	ATAA	55	ABI3700	24386986	167	154/162	154/162	146/154	146/154	154/162	-/-	142/150	158/166
RM7266	hex	1	ATCT	55	ABI3700	24446309	206	174/178	174/178	174/178	174/178	178/178	-/-	-/-	210/210

RM5919	6-fam	1	ATT	61	ABI3700	24732675	237	246/246	249/249	-/-	255/255	240/240	282/282	-/-	231/231
RM7202	6-fam	1	ATAG	50	ABI3700	26197344	157	150/150	150/150	150/150	150/150	150/150	-/-	150/150	150/150
RM246	ned	1	CT	55	ABI3700	27663069	92-116	107/107	115/115	109/109	109/109	107/107	-/-	-/-	107/107
RM7514	6-fam	1	TATG	50	ABI3700	29570745	173	171/171	171/171	-/-	-/-	171/171	-/-	-/-	171/171
RM1183	ned	1	AG	50	ABI3700	30973520	146	143/143	143/143	131/131	146/146	146/146	143/143	143/143	146/146
RM7650	ned	1	TTTC	50	ABI3700	31706322	115	114/114	-/-	114/114	114/114	114/114	-/-	-/-	114/114
RM212	hex	1	CT	55	ABI3700	33047896	112-136	114/114	114/114	132/132	114/114	114/114	114/114	136/136	114/114
RM226(OSR3)	6-fam	1	AT	55	ABI3700	34027374	245-335	142/142	140/140	-/-	142/142	142/142	-/-	-/-	132/132
RM315	hex	1	(AT)(GT)	55	ABI3700	36728458	130-145	137/137	133/133	133/133	137/137	137/137	135/135	141/141	139/139
RM431	ned	1	AG	55	ABI3700	38888469	251	253/253	255/255	253/253	249/249	251/251	241/241	243/243	249/249
RM7600	hex	1	TGGA	50	ABI3700	39168149	109	92/104	92/104	92/104	92/108	100/100	104/104	104/104	92/92
OSR23	ned	1	CT	55	ABI3700	40433824	138	142/142	142/142	142/142	138/138	138/138	142/142	130/130	138/138
RM3362	6-fam	1	CT	50	ABI3700	43036403	139	124/124	124/124	124/124	136/136	136/136	-/-	126/126	126/126
OG12	6-fam	1	(TC)(TG)T(TG)T(TG)	56	ABI3700	NA	212	221/221	217/217	219/219	203/203	201/201	-/-	201/201	247/247
OG65	6-fam	1	(CT)C(CT)	56	ABI3700	NA	210	236/236	208/244	208/208	222/222	240/240	200/200	206/206	208/208
OG79	ned	1	AG	50	ABI3700	NA	191	188/188	188/188	196/196	194/194	198/198	186/186	170/170	186/186
OG81	6-fam	1	AG	56	ABI3700	NA	71-89	70/70	70/70	72/72	84/84	74/74	80/80	118/118	-/-
RM306	6-fam	1	(GT)(AT)CT(GT)	55	ABI3700	NA	138	-/-	-/-	152/152	152/152	146/146	176/176	162/162	152/152
RM312	ned	1	(ATTT)(GT)	55	ABI3700	NA	102	99/99	93/93	99/99	96/96	96/96	99/99	105/105	96/96
RM34	hex	1	(CT)(TC)	55	ABI377	NA	161	170/170	170/170	170/170	170/170	170/170	170/170	170/170	170/170
RM568	6-fam	1	CT	55	ABI3700	NA	266	291/291	-/-	-/-	265/265	-/-	-/-	223/223	-/-
RM84	ned	1	TCT	55	ABI3700	NA	110	112/112	112/112	109/112	-/-	115/115	-/-	106/106	109/109
RM7451	ned	2	TAAT	55	ABI3700	651894	154	-/-	148/148	160/160	152/152	152/152	-/-	-/-	152/152
RM154	6-fam	2	GA	61	ABI3700	1083920	183	188/188	188/188	192/192	192/192	188/188	188/188	188/188	188/188
RM7033	6-fam	2	AAAT	55	ABI3700	1660893	142	135/135	135/135	135/135	127/127	127/127	135/135	115/115	135/135
RM233	hex	2	CT	55	ABI3700	2069884	162	143/143	143/143	135/159	141/141	137/137	137/137	137/137	137/137
RM1075	hex	2	AC	50	ABI3700	3833177	200	223/223	-/-	205/205	209/209	213/213	213/213	217/217	211/211
RM7581	ned	2	TCTG	55	ABI3700	4206413	228	130/130	130/130	126/130	226/226	238/238	130/130	230/230	238/238
RM7215	6-fam	2	ATAG	55	ABI3700	4790692	110	87/87	87/87	99/99	127/127	87/87	87/87	87/99	87/87

RM7575	ned	2	TCTA	50	ABI3700	6165207	118	197/197	221/221	221/221	-/-	197/197	197/197	203/203	197/197
RM7355	hex	2	CTAC	55	ABI3700	7143991	191	192/192	188/188	192/192	188/188	188/188	188/188	184/184	188/188
RM7636	ned	2	TTCT	50	ABI3700	7663343	166	154/154	154/154	154/154	166/166	166/166	-/-	158/158	154/154
RM145(OSR9)	hex	2	GA	67	ABI3700	7706071	215	165/165	167/167	165/165	-/-	163/163	171/171	-/-	163/163
RM71	hex	2	(ATT)T(ATT)	55	ABI3700	8760433	125	147/147	147/147	138/138	123/123	123/123	-/-	75/75	123/123
RM7288	hex	2	ATCT	55	ABI3700	9032703	146	140/140	144/144	140/140	144/144	144/144	-/-	-/-	144/144
RM7501	ned	2	TATC	50	ABI3700	9243319	152	106/106	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	96/102
RM452	6-fam	2	GTC	55	ABI3700	9562527	209	204/204	204/204	204/204	207/207	207/207	207/207	-/-	207/207
RM290	6-fam	2	GA	55	ABI3700	10806307	172	178/178	166/166	178/178	170/170	172/172	172/172	-/-	172/172
RM300	ned	2	GTT	55	ABI3700	13190528	168	130/130	124/124	127/127	166/166	166/166	154/154	106/106	163/163
RM7624	ned	2	TTAA	50	ABI3700	21006250	133	181/181	181/181	181/181	181/181	181/181	141/141	101/101	177/181
RM7205	6-fam	2	ATAG	50	ABI3700	23526119	177	173/173	173/173	209/209	173/173	173/173	193/193	-/-	209/209
RM263	6-fam	2	CT	55	ABI3700	25865334	160	157/157	149/155	149/155	-/-	155/155	157/157	145/145	157/157
RM7511	ned	2	TATC	55	ABI3700	26626712	194	206/206	190/190	190/190	242/242	194/194	186/186	158/158	190/190
RM6535	hex	2	GCG	55	ABI3700	31164313	132	129/129	129/129	129/129	129/129	-/-	-/-	-/-	129/129
RM240	hex	2	CT	55	ABI3700	31497147	131-157	132/132	110/110	132/132	-/-	108/108	110/110	-/-	110/110
RM7307	hex	2	ATTC	55	ABI3700	32871280	100	98/98	102/102	102/102	98/110	98/98	-/-	-/-	98/98
RM7286	hex	2	ATCT	55	ABI3700	33019042	133	133/133	81/81	81/81	145/145	113/113	89/89	-/-	113/113
RM3774	hex	2	GA	55	ABI3700	34462909	156	142/142	156/156	152/152	154/154	154/154	144/144	134/134	144/144
RM208	hex	2	CT	55	ABI3700	35160202	158-180	127/127	143/143	131/131	117/117	117/117	107/107	89/89	117/117
RM498	ned	2	CA	55	ABI3700	35391758	213	218/218	218/218	218/218	212/212	212/212	218/218	216/216	210/210
RM207	hex	2	CT	55	ABI3700	35393930	118	127/127	143/143	131/131	117/117	115/115	-/-	-/-	117/117
RM6923	6-fam	2	TTA	50	ABI3700	35718230	161	157/157	157/157	157/157	157/157	157/157	-/-	-/-	157/157
OG63	hex	2	(TCA)(TC)ATGA (CA)TG(GA)	56	ABI3700	NA	110	121/121	121/121	121/121	121/121	121/121	103/103	125/125	109/109
OG87	6-fam	2	AG	56	ABI3700	NA	184-190	121/121	121/121	121/121	-/-	121/121	-/-	75/75	109/109
OSR14	6-fam	2	GA	55	ABI3700	NA	218-222	203/203	205/205	203/203	201/201	201/201	201/201	189/189	199/199
RM211	hex	2	(TC)A(TC)	55	ABI3700	NA	140	150/150	150/150	140/140	140/140	140/140	140/140	-/-	140/140
RM27 QIAGEN	hex	2	GA	55	ABI3700	NA	158	156/156	156/156	158/158	152/152	152/152	-/-	152/152	152/152
RM29	hex	2	GA	55	ABI377	NA	188-200	191/191	191/191	191/191	203/203	203.57	-/-	-/-	203/203

RM327	hex	2	(CAT)(CTT)	55	ABI3700	NA	220	208/208	208/208	208/208	217/217	217/217	-/-	-/-	217/217
RM341	6-fam	2	CTT	55	ABI3700	NA	135	170/170	155/155	170/170	140/140	134/134	-/-	-/-	140/140
RM475	ned	2	TATC	55	ABI3700	NA	235	199/199	191/191	195/195	199/199	199/199	199/199	-/-	199/199
RM561	hex	2	GA	55	ABI3700	NA	190	185/185	185/185	185/185	187/187	187/187	185/185	185/185	187/187
RM8	hex	2	(GA)C(GA)	55	ABI3700	NA	252	293/293	295/295	293/293	291/291	291/291	-/-	289/289	293/293
RM7332	hex	3	ACAT	50	ABI3700	390640	205	135/135	-/-	135/135	155/155	147/147	167/167	123/123	135/135
RM22	ned	3	GA	55	ABI3700	1500298	190	-/-	195/195	195/195	193/193	189/189	-/-	-/-	193/193
RM569	hex	3	CT	55	ABI3700	1889728	175	-/-	175/175	-/-	-/-	185/185	173/173	-/-	191/191
RM81	ned	3	TCT	55	ABI3700	1925952	110	111/111	117/117	114/120	108/108	108/108	114/117	-/-	108/108
RM489	6-fam	3	ATA	55	ABI3700	4316616	271	233/233	233/233	233/233	266/266	266/266	263/263	284/284	266/266
RM7576	ned	3	TCTA	50	ABI3700	6046794	206	250/250	218/218	218/218	206/206	206/206	234/234	206/206	230/230
RM3461	6-fam	3	CT	55	ABI3700	8318931	169	144/166	166/166	168/168	148/148	146/146	144/166	-/-	144/144
RM7365	ned	3	CTAT	55	ABI3700	11249257	167	164/164	164/164	152/152	172/172	-/-	172/172	152/152	172/176
RM7425	6-fam	3	GGCA	50	ABI3700	11588760	189	188/188	188/188	188/188	188/188	188/188	-/-	188/188	176/188
RM282	hex	3	GA	55	ABI3700	12387497	128	136/136	136/136	134/134	128/128	128/128	128/128	130/130	128/128
RM5551	hex	3	TG	55	ABI3700	12901379	118	127/127	127/127	135/135	117/117	129/129	-/-	-/-	129/129
RM338	hex	3	CTT	55	ABI3700	13201597	183	182/182	182/182	182/182	179/179	179/179	179/179	182/182	179/179
RM1164	hex	3	AG	55	ABI3700	14694597	200	190/190	190/190	190/190	190/190	190/190	-/-	196/196	190/190
RM6881	6-fam	3	TGG	61	ABI3700	16685678	78	77/77	77/77	77/77	-/-	77/77	77/77	-/-	77/77
RM7431	ned	3	GTAC	55	ABI3700	19324752	145	139/139	135/135	139/139	147/147	143/143	139/139	135/135	143/143
RM411	6-fam	3	GTT	55	ABI3700	21385364	110	-/-	110/110	102/102	110/110	106/106	-/-	134/134	106/106
RM16	hex	3	(TCG)(GA)	55	ABI3700	22928552	181	182/182	-/-	182/182	166/166	166/166	180/180	174/174	166/166
RM5626	ned	3	AAG	55	ABI3700	24671259	98	93/93	93/93	93/93	96/96	99/99	99/99	87/87	99/99
RM7117	hex	3	AGGA	55	ABI3700	28578069	158	156/156	144/144	-/-	156/156	156/156	124/124	-/-	156/156
RM416	hex	3	GA	55	ABI3700	31194667	114	111/111	111/111	111/111	113/113	113/113	-/-	109/109	113/113
RM7076	6-fam	3	ACAT	55	ABI3700	33599297	199	210/210	210/210	210/210	214/214	210/210	-/-	202/202	194/194
RM422	hex	3	AG	55	ABI3700	33655206	385	383/383	383/383	345/345	397/397	377/377	-/-	375/375	387/387
RM514	6-fam	3	AC	55	ABI3700	35074716	259	-/-	266/266	238/238	244/244	242/242	244/244	-/-	244/244
RM570	6-fam	3	AG	55	ABI3700	35534495	208	246/246	242/242	244/244	-/-	282/282	270/270	270/270	204/204

RM7389	ned	3	GATA	55	ABI3700	36101237	111	-/-	-/-	-/-	105/105	105/105	105/105	-/-	109/109
OG66	ned	3	(AT)(CT)	56	ABI3700	NA	160	-/-	138/138	-/-	-/-	166/166	138/138	156/156	172/172
OSR16	ned	3		56	ABI3700	NA	128	127/127	127/127	-/-	127/127	127/127	127/127	127/127	127/127
RM231	hex	3	CT	55	ABI3700	NA	162-188	184/184	184/184	184/184	180/180	180/180	180/180	192/192	182/182
RM232	hex	3	CT	55	ABI3700	NA	142-166	157/157	157/157	159/159	159/159	157/157	-/-	-/-	143/143
RM55	hex	3	GA	55	ABI3700	NA	217-235	226/226	226/226	226/226	230/230	232/232	-/-	228/228	232/232
RM7	ned	3	GA	55	ABI3700	NA	168-182	181/181	181/181	181/181	167/173	167/173	173/173	165/165	167/173
RM7585	6-fam	4	TCTT	50	ABI3700	219842	157	153/153	153/153	149/149	145/145	145/145	153/153	93/93	145/145
RM335	6-fam	4	CTT	55	ABI3700	679893	112	109/109	109/109	148/148	160/160	139/139	-/-	-/-	160/160
RM5414	6-fam	4	TC	55	ABI3700	2021760	116	113/113	113/113	105/105	109/109	109/109	101/101	91/91	109/109
RM7200	6-fam	4	ATAG	55	ABI3700	4019299	174	173/173	173/173	173/173	177/177	161/161	153/153	161/161	185/185
RM261	hex	4	C(CT)	55	ABI3700	6558964	105-125	121/121	121/121	129/129	-/-	121/121	-/-	-/-	121/121
RM7472	ned	4	TAGA	50	ABI3700	7057445	112	107/107	-/-	111/111	115/115	-/-	107/107	123/123	107/107
RM7279	hex	4	ATCT	55	ABI3700	13825526	201	208/220	-/-	172/172	212/212	212/212	-/-	-/-	-/-
RM7181	hex	4	ATAG	55	ABI3700	15439751	144	142/142	142/142	146/146	142/142	142/142	142/142	142/142	142/142
RM7290	hex	4	ATGG	50	ABI3700	15709786	148	-/-	143/143	155/155	143/143	147/147	-/-	127/127	143/155
RM5687	ned	4	AAT	50	ABI3700	15927814	158	190/190	145/145	169/169	-/-	178/178	-/-	-/-	202/202
RM7113	6-fam	4	AGAT	50	ABI3700	18340226	213	224/224	-/-	220/220	-/-	244/244	228/228	-/-	-/-
RM6314	ned	4	CTT	50	ABI3700	18627879	169	169/169	-/-	165/165	171/171	171/171	141/171	139/139	141/141
RM185	6-fam	4	AGG	61	ABI3700	18762727	197	194/194	194/194	191/191	194/194	194/194	194/194	182/182	194/194
RM5951	hex	4	CAC	55	ABI3700	19965149	92	87/87	87/87	87/87	87/87	87/87	84/84	75/75	84/84
RM119	hex	4	GTC	67	ABI3700	21227137	166	165/165	168/168	165/165	165/165	165/165	171/171	153/165	165/165
RM3337	ned	4	CT	50	ABI3700	21913014	125	123/123	123/123	123/123	125/125	123/123	123/123	-/-	123/125
RM252	hex	4	CT	55	ABI3700	25337620	192	194/194	216/216	216/216	194/194	194/194	238/238	218/218	194/194
RM7210	6-fam	4	ATAG	50	ABI3700	28613261	158	128/128	128/128	128/128	152/152	76/76	76/188	76/124	128/128
RM7208	6-fam	4	ATAG	50	ABI3700	30175734	180	127/127	127/127	127/131	179/179	183/183	175/175	103/103	127/127
RM349	6-fam	4	GA	55	ABI3700	32718532	136	131/131	129/129	131/131	145/145	145/145	129/129	117/117	135/135
RM348	hex	4	CAG	55	ABI3700	32869438	136	130/130	130/130	130/130	139/139	139/139	130/130	136/136	139/139
RM7410	hex	4	GCAC	50	ABI3700	34076091	145	120/120	120/120	-/-	120/120	120/120	-/-	-/-	120/120

RM567	6-fam	4	GA	55	ABI3700	34499760	261	241/241	243/243	243/243	251/251	249/249	-/-	233/233	251/251
RM7474	hex	4	TAGA	50	ABI3700	34539185	121	115/115	-/-	-/-	103/103	111/111	-/-	159/159	-/-
RM124	6-fam	4	TC	67	ABI3700	34960080	271	166/166	166/166	166/166	166/166	176/176	138/138	-/-	-/-
OSR15	6-fam	4			ABI3700	NA	114	106/106	106/106	106/106	106/106	132/132	106/106	-/-	144/144
RM273	hex	4	GA	55	ABI3700	NA	200	201/201	209/209	209/209	201/201	201/201	201/201	-/-	199/199
RM307	ned	4	(AT)(GT)	55	ABI3700	NA	174	128/128	128/128	128/128	128/128	128/128	128/128	128/128	128/128
RM456B	6-fam	4	TA	55	ABI3700	NA	232	116/116	98/116	98/116	116/116	116/116	116/116	-/-	116/116
RM507	hex	5	AAGA	55	ABI3700	71514	258	127/127	127/127	127/127	127/127	127/127	127/127	127/127	127/127
RM153	6-fam	5	GAA	55	ABI3700	167824	201	201/201	201/201	201/201	198/198	198/198	201/201	219/219	198/198
RM7373	6-fam	5	CTTT	50	ABI3700	279480	136	133/133	133/133	133/133	-/-	133/133	133/133	133/133	133/133
RM1024	ned	5	AC	55	ABI3700	1174375	141	129/129	-/-	129/129	139/139	139/139	139/139	129/129	139/139
RM413	ned	5	AG	55	ABI3700	2152404	79	67/69	77/79	75/77	79/79	79/79	69/69	71/71	79/79
RM592	ned	5	ATT	55	ABI3700	2736620	270	240/240	278/278	-/-	276/276	252/252	-/-	-/-	270/270
RM7444	ned	5	TAAA	55	ABI3700	3299012	155	147/147	151/151	147/147	151/151	151/151	-/-	-/-	-/-
RM574	ned	5	GA	55	ABI3700	3390564	155	176/176	158/158	154/154	158/158	158/158	188/188	146/152	158/158
RM437	6-fam	5	AG	55	ABI3700	3815948	275	245/245	247/247	247/247	259/259	255/255	257/257	241/241	255/255
RM3853	6-fam	5	GA	61	ABI3700	4043914	123	128/128	144/144	128/128	128/128	128/128	-/-	128/128	128/128
RM289	ned	5	G(GA)	55	ABI3700	7787118	88	86/86	106/106	106/106	86/86	86/86	86/86	-/-	86/86
RM7363	6-fam	5	CTAT	50	ABI3700	17624185	124	-/-	144/144	144/144	106/106	106/106	118/118	106/106	118/118
RM6024	6-fam	5	CCG	50	ABI3700	17668564	178	166/166	166/166	166/166	175/175	175/175	175/175	178/178	175/175
RM7196	ned	5	ATAG	61	ABI3700	18374503	151	139/151	71/71	71/71	71/71	147/147	151/151	151/151	151/151
RM164	ned	5	(GT)TT(GT)	55	ABI3700	19114842	246	268/268	268/268	268/268	296/296	294/294	294/294	-/-	256/256
RM459	ned	5	CTAC	55	ABI3700	20155983	63	61/61	-/-	-/-	65/65	-/-	61/65	65/65	65/65
RM3663	hex	5	GA	55	ABI3700	21281751	125	125/125	123/123	123/123	123/123	123/123	123/123	-/-	123/123
RM173	hex	5	GA	67	ABI3700	21623805	186	189/189	189/189	189/189	185/185	185/185	185/185	209/209	185/185
RM534	6-fam	5	CGC	55	ABI3700	23924944	156	152/152	152/152	152/152	152/152	152/152	152/152	152/152	152/152
RM7081	6-fam	5	ACCA	50	ABI3700	24441878	89	81/81	81/81	81/81	85/85	85/85	85/85	93/93	81/81
RM7446	ned	5	TAAA	55	ABI3700	24932863	188	-/-	198/198	206/206	198/198	198/198	-/-	194/194	198/198
RM178	ned	5	(GA)(AG)	67	ABI3700	25081202	117	118/118	118/118	118/118	116/116	116/116	116/116	114/114	116/116

RM7269	hex	6	ATCT	55	ABI3700	23295433	142	-/-	143/155	143/143	151/151	155/155	-/-	-/-	155/155
RM7434	ned	6	GTAT	50	ABI377	23552227	143	119/119	119/119	119/119	143/143	123/123	147/147	119/119	119/123
RM162(OSR18)	ned	6	AC	61	ABI3700	23652879	229	209/209	209/209	209/209	231/239	203/203	209/209	239/239	203/203
RM5957	6-fam	6	CAG	55	ABI3700	24138891	90	184/184	184/184	184/184	184/184	184/184	184/184	184/184	193/193
RM7329	hex	6	CATA	50	ABI3700	25104452	234	-/-	184/220	-/-	-/-	164/164	-/-	-/-	164/164
RM7309	ned	6	ATTT	55	ABI3700	25914707	154	152/152	152/152	148/148	152/152	152/152	-/-	-/-	-/-
RM3(RM30)	ned	6	(AG)A(GA)	55	ABI3700	26869678	118-148	104/104	104/104	80/104	82/82	82/82	74/74	-/-	82/82
RM30	ned	6	(AG)A(GA)	55	ABI3700	27252300	82-106	104/104	104/104	104/104	134/134	136/136	104/104	-/-	150/150
RM7555	ned	6	TATT	50	ABI3700	29569773	141	75/75	75/75	75/75	111/111	111/111	75/75	83/83	111/111
RM412	hex	6	GA	55	ABI3700	30327854	198	186/186	186/186	172/186	186/186	186/186	144/144	-/-	188/188
RM345	6-fam	6	CTT	55	ABI3700	30864845	153	167/167	167/167	167/167	161/161	167/167	167/167	161/161	167/167
RM103	hex	6	GAA	55	ABI3700	30889200	336	260/260	260/260	260/260	260/260	260/260	-/-	-/-	260/260
RM133	6-fam	6	CT	61	ABI3700	NA	230	227/227	-/-	225/225	-/-	227/227	225/225	-/-	227/227
RM217	6-fam	6	CT	55	ABI3700	NA	120-166	146/146	142/142	144/144	142/142	142/142	142/142	130/130	142/142
RM454	hex	6	GCT	55	ABI3700	NA	268	269/269	269/269	269/269	266/266	266/266	269/269	-/-	-/-
RM7454	6-fam	7	TACA	55	ABI3700	1102352	99	95/95	-/-	103/103	95/95	95/95	95/95	99/99	95/95
RM7012	ned	7	AAAG	50	ABI3700	2557838	89	86/86	86/86	86/86	86/86	86/86	86/86	86/86	-/-
RM5055	hex	7	TA	55	ABI3700	2682247	162	102/102	150/150	102/102	134/134	134/134	102/102	104/104	122/122
RM7418	hex	7	GCTT	61	ABI377	3220950	88	78/78	78/78	78/78	-/-	-/-	74/74	78/78	86/86
RM1243	hex	7	AG	50	ABI3700	3587869	157	142/142	142/142	156/156	168/168	186/186	174/174	144/144	176/176
RM7479	6-fam	7	TATC	55	ABI3700	4167769	216	157/157	157/157	157/157	173/173	173/173	-/-	-/-	173/173
RM180	hex	7	ATT	55	ABI3700	5768455	110	108/108	108/108	108/108	108/108	108/108	-/-	99/99	108/108
RM7161	6-fam	7	ATAC	50	ABI3700	5929101	197	200/200	200/200	200/200	180/180	180/180	200/200	200/200	180/180
RM1253	hex	7	AG	50	ABI3700	7001046	175	162/162	162/162	162/162	166/166	166/166	-/-	160/160	166/166
RM7153	6-fam	7	ATAC	55	ABI3700	8640652	154	140/140	140/140	140/140	152/152	152/152	160/160	160/160	152/152
RM7074	6-fam	7	ACAT	61	ABI3700	9010076	168	-/-	-/-	-/-	-/-	161/161	145/145	-/-	161/161
RM214	hex	7	CT	55	ABI3700	12782791	108-150	112/112	112/112	-/-	138/138	122/122	-/-	116/116	148/148
RM7273	hex	7	ATCT	55	ABI3700	13377137	155	185/185	185/185	181/181	157/157	153/153	145/145	-/-	153/153
RM7338	hex	7	CATC	55	ABI3700	15335246	164	160/160	164/164	160/160	144/144	144/144	164/164	152/152	144/144

RM500	hex	7	AAG	55	ABI3700	15858082	259	253/253	253/253	241/241	259/259	256/256	259/259	-/-	253/253
ARM7110	6-fam	7	AGAT	50	ABI3700	16800718	153	166/166	154/154	222/222	150/150	138/138	150/150	222/222	150/150
RM7110	6-fam	7	AGAT	55	ABI3700	16800718	176	191/191	179/179	183/183	175/175	163/163	175/175	163/163	175/175
RM1135	6-fam	7	AG	55	ABI3700	16879457	148	139/139	145/145	139/139	145/145	145/145	139/139	-/-	145/145
RM445	hex	7	AG	55	ABI3700	17409772	251	256/256	254/254	246/246	244/244	250/250	-/-	-/-	252/252
RM533	ned	7	CT	55	ABI3700	17459607	257	258/258	256/256	258/258	258/258	258/258	256/256	-/-	252/252
RM418	6-fam	7	ATT	55	ABI3700	18131530	283	279/279	279/279	309/309	258/258	294/294	291/291	261/261	294/294
RM11	ned	7	GA	55	ABI3700	19204350	121-147	129/129	129/129	143/143	129/129	119/119	121/121	85/85	129/129
RM7087	ned	7	AGAT	50	ABI3700	19304865	114	101/101	101/101	101/101	101/101	101/101	101/101	109/109	101/101
RM560	ned	7	CT	55	ABI3700	19530534	239	237/237	237/237	235/235	237/237	237/237	237/257	241/241	237/237
RM3404	ned	7	CT	50	ABI3700	20053345	206	186/186	186/186	178/206	186/186	186/186	-/-	186/186	180/186
RM182	ned	7	AT	67	ABI3700	21451927	346	329/329	331/331	329/329	331/331	331/331	331/331	331/331	331/331
RM336	hex	7	CTT	55	ABI3700	21818658	145	148/148	166/166	151/151	166/166	148/148	-/-	-/-	148/148
RM455	6-fam	7	TTCT	55	ABI3700	22298054	131	124/124	124/124	124/124	128/128	128/128	-/-	136/136	128/128
RM7237	hex	7	ATAG	55	ABI3700	23176063	202	180/252	168/252	180/240	164/172	256/256	172/260	-/-	172/252
RM7441	hex	7	GTGG	61	ABI3700	24935379	199	188/188	188/188	192/192	192/192	192/192	192/192	188/188	192/192
RM234	6-fam	7	CT	55	ABI3700	25420132	126-164	152/152	134/134	152/152	134/134	140/140	-/-	136/136	140/140
RM18	ned	7	(GA)AA(GA)AG	55	ABI377	25600022	137-165	157/157	155/155	157/157	157/157	157/157	-/-	157/157	157/157
RM3555	ned	7	GA	50	ABI377	27838042	154	142/142	142/142	142/142	142/142	-/-	-/-	144/144	142/142
RM248	hex	7	CT	55	ABI3700	29339144	72-102	101/101	101/101	95/95	79/79	79/79	67/67	-/-	81/81
RM420	6-fam	7	AAAT	55	ABI3700	29430524	197	184/184	184/184	184/184	180/180	180/180	180/180	192/192	184/184
RM10	hex	7	GA	55	ABI3700	NA	159-177	159/159	159/159	159/159	169/169	169/169	-/-	-/-	159/159
RM125	6-fam	7	GCT	55	ABI3700	NA	127	103/136	103/103	-/-	112/112	112/112	112/112	112/112	112/112
RM2	6-fam	7	(GA)A(GA)	55	ABI3700	NA	119-153	220/220	220/220	220/220	148/199	148/148	-/-	139/139	148/199
RM481	ned	7	CAA	55	ABI3700	NA	169	148/148	142/142	175/175	145/145	160/160	199/199	-/-	217/217
RM505	6-fam	7	CT	55	ABI3700	NA	199	178/178	-/-	200/200	202/202	202/202	178/178	178/178	200/200
RM6810	hex	7	TCT	50	ABI3700	NA	71	64/64	61/61	70/70	70/70	61/61	-/-	73/73	64/64
RM408	6-fam	8	CT	55	ABI3700	119997	128	118/118	118/118	118/118	126/126	118/118	124/124	118/118	118/118
RM7034	6-fam	8	AAAT	50	ABI3700	145364	149	121/121	121/121	65/65	121/121	65/121	65/65	65/65	65/121

RM6925	ned	8	TTA	55	ABI3700	641682	271	132/132	132/132	132/132	234/234	237/237	159/159	135/135	126/126
OSR34(RM152)	hex	8	GCG	55	ABI3700	677702	151	126/126	126/126	126/126	144/144	144/144	144/144	144/144	144/144
RM152	hex	8	GGC	55	ABI3700	677702	151	127/155	127/155	-/-	143/143	143/143	143/143	-/-	143/143
RM6863	ned	8	TGC	55	ABI3700	2005990	190	176/176	173/173	173/173	179/179	179/179	-/-	176/176	-/-
RM38	6-fam	8	GA	55	ABI3700	2109541	236-278	245/245	249/249	247/247	259/259	255/255	257/257	241/241	255/255
RM25	ned	8	GA	55	ABI3700	4372182	130-160	145/145	143/143	145/145	119/141	121/141	-/-	-/-	121/139
RM7080	ned	8	ACCA	55	ABI3700	4694609	150	133/133	137/137	133/133	149/149	145/145	149/149	145/145	145/145
RM7057	6-fam	8	AATT	50	ABI3700	5849990	177	163/163	163/163	163/163	163/163	163/163	171/171	159/159	163/163
RM7267	hex	8	ATCT	55	ABI3700	10181514	153	120/120	120/120	120/120	156/156	160/160	148/148	116/116	160/160
RM7027	6-fam	8	AAAT	55	ABI3700	15714757	85	72/76	72/76	-/-	72/84	76/84	72/84	84/84	-/-
RM7285	hex	8	ATCT	55	ABI3700	18756384	181	157/157	149/157	149/157	169/169	169/169	157/157	157/157	177/177
RM3153	6-fam	8	CA	55	ABI3700	18982448	154	150/150	134/150	134/140	140/154	140/140	-/-	-/-	140/140
RM42	6-fam	8	(AG)(AG)T(GA)	55	ABI3700	19964404	166-176	136/164	136/164	136/164	136/160	136/162	128/164	164/164	-/-
RM7049	6-fam	8	AATA	50	ABI3700	20807910	159	135/135	135/135	135/135	155/155	147/147	167/167	139/139	135/135
RM7580	ned	8	TCTG	55	ABI3700	20821349	210	202/202	202/202	202/202	210/210	198/198	202/202	202/202	198/198
RM284	6-fam	8	GA	55	ABI3700	21137914	150	146/146	140/140	140/140	146/146	142/142	140/140	-/-	142/142
RM7556	6-fam	8	TCAC	50	ABI3700	22202567	131	128/128	120/120	120/120	128/128	128/128	108/108	108/108	120/128
RM210	ned	8	CT	55	ABI3700	22341708	121-163	-/-	114/114	154/154	114/114	114/114	114/114	-/-	114/114
RM5353	6-fam	8	TC	50	ABI3700	24114592	177	179/179	129/129	177/177	177/177	177/177	189/189	-/-	177/177
RM256	hex	8	CT	55	ABI3700	24140506	104	105/105	105/105	105/105	105/105	105/105	-/-	-/-	-/-
RM80	ned	8	TCT	55	ABI3700	24474208	123	116/116	116/116	113/113	101/101	101/101	-/-	-/-	101/101
RM447	hex	8	CTT	55	ABI3700	26542515	111	116/116	116/116	104/104	110/110	110/110	110/110	119/119	110/110
RM6075	hex	8	CCT	50	ABI3700	27764004	141	137/140	137/140	137/140	140/140	140/140	-/-	137/137	140/140
RM7400	hex	8	GATG	55	ABI3700	27892952	127	122/122	122/122	122/122	126/126	126/126	-/-	126/126	126/126
RM477	ned	8	AATT	55	ABI3700	28070747	223	217/217	217/217	217/217	221/221	221/221	-/-	217/217	221/221
OSR30	ned	8		56	ABI3700	NA	112	123/123	123/123	123/123	127/127	111/111	111/111	-/-	111/111
RM433	ned	8	AG	55	ABI3700	NA	224	222/222	-/-	236/236	222/222	222/222	224/224	222/222	222/222
RM44	6-fam	8	GA	55	ABI3700	NA	99	102/102	102/102	116/116	108/108	-/-	-/-	-/-	-/-
RM316	hex	9	(GT)(TG)(TTG)(TG)	55	ABI3700	1022756	195	194/194	197/197	194/194	164/164	164/164	-/-	185/185	164/164

RM444	6-fam	9	AT	55	ABI3700	5925016	162	167/167	-/-	167/167	163/163	159/159	159/159	191/191	169/169
RM7212	6-fam	9	ATAG	55	ABI3700	6546861	151	164/164	148/148	136/136	144/144	144/144	164/164	124/124	-/-
RM7364	hex	9	CTAT	50	ABI3700	9509462	204	211/211	207/207	207/207	211/211	211/211	-/-	219/219	203/203
RM7390	ned	9	GATA	55	ABI3700	10417793	140	143/143	143/143	-/-	143/143	143/143	-/-	-/-	143/143
RM3769	ned	9	GA	50	ABI3700	11694773	103	101/101	-/-	93/93	101/101	101/101	97/97	-/-	101/101
RM7038	ned	9	AACA	50	ABI3700	11752077	152	149/149	145/145	145/145	145/145	149/149	145/145	145/145	149/149
RM105	ned	9	CCT	55	ABI3700	12496528	134	131/131	128/128	137/137	131/131	131/131	134/134	-/-	131/131
RM7289	hex	9	ATCT	50	ABI3700	17210236	195	175/175	175/179	175/175	215/215	203/203	155/155	127/127	203/203
RM6570	hex	9	GGA	55	ABI3700	18576133	119	122/122	122/122	122/122	119/119	119/119	119/119	113/113	119/119
RM242	ned	9	CT	55	ABI3700	18642201	193-229	217/217	217/217	225/225	193/193	193/193	-/-	189/189	197/197
RM6251	ned	9	CTC	55	ABI3700	18889303	118	112/112	-/-	118/118	118/118	118/118	112/112	112/112	-/-
RM7343	hex	9	CCAT	50	ABI3700	19226069	96	89/89	89/89	89/89	93/93	93/93	93/93	89/89	89/93
OSR28	6-fam	9	AGA	55	ABI3700	19788251	208	135/135	-/-	135/135	174/174	168/168	171/171	129/129	168/168
RM201	hex	9	CT	55	ABI3700	19879785	140	-/-	155/155	155/155	141/141	141/141	-/-	-/-	143/143
RM3808	hex	9	GA	55	ABI3700	20246518	119	131/131	155/155	131/131	119/119	115/115	131/131	-/-	119/119
RM1553	6-fam	9	AT	55	ABI3700	20702581	161	176/176	184/184	152/152	152/152	152/152	168/168	-/-	154/154
RM215	6-fam	9	CT	55	ABI3700	20888227	138-152	147/147	145/145	149/149	149/149	149/149	147/147	141/141	153/153
RM6643	ned	9	GTC	50	ABI3700	21405830	143	142/142	142/142	142/142	142/142	142/142	-/-	-/-	142/142
RM7306	6-fam	9	ATTA	50	ABI3700	21906545	157	154/154	154/154	154/154	150/150	138/138	150/150	154/154	146/146
RM2255	6-fam	9	AT	55	ABI3700	22290441	191	137/137	133/133	133/133	129/129	137/137	135/135	141/141	139/139
RM205	hex	9	CT	55	ABI3700	22419780	122-160	-/-	122/122	122/122	156/156	156/156	158/158	158/158	154/154
OG10	ned	9	AG	56	ABI3700	NA	128	98/98	118/118	98/98	98/98	96/96	92/92	82/82	98/98
OG106	hex	9	AG	56	ABI3700	NA	178-254	204/204	204/204	204/204	224/224	246/246	178/178	232/232	242/242
OG45	6-fam	9	AG	56	ABI3700	NA	232	242/242	-/-	236/236	222/222	238/238	224/224	250/250	242/242
OG74	6-fam	9	(CCT)(CT)T(TC)	50	ABI3700	NA	114	-/-	104/104	98/98	110/110	110/110	108/108	98/98	108/108
RM219	hex	9	CT	55	ABI3700	NA	180-222	-/-	219/219	195/195	195/195	193/193	-/-	-/-	193/193
RM7492	6-fam	10	TATC	55	ABI3700	33968	145	122/126	130/134	122/126	134/134	134/134	146/146	-/-	150/150
RM6370	6-fam	10	GAA	55	ABI3700	324443	91	59/59	59/59	59/59	59/59	59/59	59/59	74/74	83/83
RM474	6-fam	10	AT	55	ABI3700	1798932	252	233/233	272/272	224/224	251/251	254/254	-/-	-/-	260/260

RM7217	hex	10	ATAG	61	ABI3700	4278021	210	165/165	169/169	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
RM2125	ned	10	AT	55	ABI3700	4543325	142	134/134	108/108	108/108	108/134	132/132	-/-	108/108	108/108
RM239	6-fam	10)AG)TG(AG)	55	ABI3700	9216202	142-146	141/141	143/143	141/141	117/143	141/141	117/141	143/143	143/143
RM4455	hex	10	TA	55	ABI3700	11221543	116	-/-	-/-	118/118	134/134	162/162	-/-	-/-	160/160
RM184	6-fam	10	CA	55	ABI3700	16100732	219	202/202	202/202	202/202	202/202	202/202	214/214	214/214	202/202
RM1937	6-fam	10	AT	55	ABI3700	17483480	120	190/190	102/102	-/-	100/100	102/102	-/-	-/-	100/100
RM171	6-fam	10	GATG	55	ABI3700	18790632	328	343/343	323/323	343/343	343/343	343/343	335/335	327/327	343/343
RM3019	6-fam	10	AT	55	ABI3700	19314204	198	-/-	117/117	117/117	153/153	155/155	157/157	157/157	153/153
RM7300	ned	10	ATTA	50	ABI3700	19484242	102	108/108	108/108	108/108	108/108	108/108	100/100	92/92	108/108
RM5352	hex	10	TC	55	ABI3700	20672962	169	169/169	169/169	169/169	159/167	-/-	171/171	185/185	183/183
RM484	ned	10	AT	55	ABI3700	20808566	299	293/293	295/295	293/293	291/291	293/293	-/-	289/289	-/-
RM591	6-fam	10	AC	55	ABI3700	22451229	258	242/242	288/288	-/-	296/296	286/286	290/290	200/200	-/-
OG26	hex	10	AG	56	ABI3700	NA	106-116	99/99	99/99	-/-	103/103	103/103	99/99	97/97	105/105
RM222	6-fam	10	CT	55	ABI3700	NA	199-221	222/222	208/208	204/204	204/204	204/204	202/202	202/202	202/202
RM269	hex	10	GA	55	ABI3700	NA	182	187/187	183/183	183/183	185/185	-/-	185/185	185/185	185/185
RM271	ned	10	GA	55	ABI3700	NA	90	88/88	102/102	102/102	88/88	88/88	-/-	-/-	88/88
RM181(OSR1)	6-fam	11	(CT)(AT)	67	ABI3700	202113	240	266/266	264/264	266/266	-/-	270/270	266/266	-/-	270/270
RM7173	6-fam	11	ATAG	55	ABI3700	442216	120	117/117	117/117	109/109	117/117	117/117	117/117	105/105	117/117
RM7453	ned	11	TAAT	55	ABI3700	933299	172	175/175	155/175	155/155	175/175	159/175	191/191	-/-	159/175
RM7203	6-fam	11	ATAG	55	ABI3700	1083931	106	105/105	105/105	85/89	105/105	105/105	93/93	-/-	105/105
RM3668	6-fam	11	GA	50	ABI3700	1463399	101	107/107	89/89	107/107	107/107	107/107	89/89	89/89	109/109
RM7557	ned	11	TCAC	50	ABI3700	2327475	177	176/176	176/176	176/176	176/176	176/176	180/180	172/172	-/-
RM5599	6-fam	11	AAC	55	ABI3700	3808934	148	122/122	122/122	122/122	122/122	122/122	122/122	131/131	143/143
RM552	hex	11	TAT	55	ABI3700	4817484	195	175/226	175/226	214/214	175/220	175/223	178/178	-/-	175/175
RM4504	ned	11	TA	55	ABI3700	5399898	127	102/102	98/102	102/102	102/102	102/102	102/102	102/102	102/102
RM120	6-fam	11	(GA)TAG(ATC)		ABI3700	5727768	173	165/165	165/165	169/169	167/167	167/167	-/-	155/155	167/167
RM116	ned	11	CT	55	ABI3700	5740642	258	276/276	276/276	280/280	278/278	278/278	278/278	266/266	278/278
RM536	ned	11	CT	55	ABI3700	8891825	243	226/226	226/226	226/226	224/224	234/234	232/232	224/224	244/244
RM202	hex	11	CT	55	ABI3700	8908399	189	163/163	163/163	163/163	161/161	187/187	181/181	-/-	175/175

RM7283	hex	11	ATCT	55	ABI3700	9024217	183	190/190	190/190	190/190	174/174	170/170	198/198	130/130	190/190
RM7391	hex	11	GATA	55	ABI3700	9840093	193	229/229	229/229	229/229	193/193	197/197	-/-	-/-	197/197
RM7463	ned	11	TACA	55	ABI3700	10095283	187	217/217	217/217	217/217	185/185	189/189	-/-	213/213	189/189
RM7120	6-fam	11	ATAA	55	ABI3700	11685002	153	150/150	150/150	150/150	150/150	150/150	150/150	-/-	150/150
RM3428	6-fam	11	CT	55	ABI3700	13366615	156	139/139	139/139	139/139	157/157	155/155	157/157	-/-	155/155
RM7226	hex	11	ATAG	55	ABI3700	13936515	163	179/179	179/179	179/179	155/155	151/151	167/167	-/-	151/151
RM7303	6-fam	11	ATTA	55	ABI3700	16396823	131	128/128	128/128	128/128	128/128	128/128	128/128	-/-	128/128
RM287	ned	11	GA	55	ABI3700	16610716	108	108/108	108/108	114/114	102/102	102/102	102/102	68/68	102/102
RM7275	hex	11	ATCT	50	ABI3700	16880270	199	197/197	-/-	221/221	-/-	197/197	-/-	-/-	-/-
RM209	6-fam	11	CT	55	ABI3700	17771755	108-164	125/125	125/125	131/131	133/133	155/155	115/115	-/-	159/159
RM229	hex	11	(TC)(CT)(CT)	55	ABI3700	18372685	90-130	117/117	117/117	121/121	129/129	127/127	121/121	-/-	125/125
RM5349	6-fam	11	TC	55	ABI3700	18985185	123	116/116	116/116	110/110	114/114	114/114	132/132	-/-	114/114
RM206	hex	11	CT	55	ABI3700	21626840	127-201	131/131	131/131	167/167	131/131	177/177	-/-	-/-	195/195
RM7277	hex	11	ATCT	55	ABI3700	23829259	148	-/-	162/162	-/-	-/-	-/-	-/-	162/162	-/-
RM7170	ned	11	ATAG	55	ABI3700	24420094	177	173/173	173/173	177/177	173/173	173/173	177/177	165/165	173/173
RM7163	6-fam	11	ATAC	55	ABI3700	25895169	200	142/142	142/142	142/142	142/142	142/142	-/-	-/-	-/-
RM7221	hex	11	ATAG	55	ABI3700	26421766	183	183/183	183/183	183/183	167/167	167/167	-/-	-/-	167/167
RM224	ned	11	(AAG)(AG)	55	ABI3700	26796502	124-159	154/154	154/154	136/142	139/139	157/157	130/130	127/127	154/154
RM7654	hex	11	TTTC	55	ABI3700	27159528	173	178/178	178/178	170/170	178/178	-/-	-	-	186/186
RM7654	ned	11	TTTC	55	ABI3700	27159528	216	220/220	220/232	220/220	220/220	220/220	-	-	220/220
RM7228	hex	11	ATAG	50	ABI3700	27707098	202	197/197	-/-	233/233	205/205	205/205	-/-	-/-	197/197
RM144	ned	11	ATT	55	ABI3700	28173902	237	220/220	220/220	247/247	253/253	244/244	235/235	-/-	253/253
OG7	hex	11	AG	56	ABI3700	NA	162	149/149	149/149	153/153	161/161	159/159	153/153	129/129	157/157
RM139	hex	11	CT	55	ABI3700	NA	386	360/360	360/360	350/350	350/350	350/350	324/324	-/-	350/350
RM187(OSR6)	hex	11	(AT)(GT)	55	ABI3700	NA	146	150/150	150/150	-/-	134/134	-/-	-/-	-/-	-/-
RM21	6-fam	11	GA	55	ABI3700	NA	140	146/146	146/146	128/128	156/156	152/152	-/-	116/116	150/150
RM254	6-fam	11	(TC)ATT(CT)	55	ABI3700	NA	165	169/169	-/-	167/167	159/159	167/167	-/-	-/-	161/161
RM7315	hex	12	CACG	55	ABI3700	2182044	189	172/172	172/172	172/172	188/188	188/188	-/-	172/172	188/188
RM453	ned	12	TC	55	ABI3700	2690459	178	172/172	172/172	-/-	172/172	172/172	172/172	-/-	172/172

RM247	ned	12	CT	55	ABI377	3185544	129-175	135/135	135/135	135/135	161/161	157/157	-/-	119/119	157/157
RM7448	ned	12	TAAT	55	ABI3700	3520946	198	-/-	-/-	193/193	197/197	197/197	197/197	-/-	197/197
RM7619	ned	12	TGTA	50	ABI3700	4828887	196	151/155	155/155	155/155	151/207	151/187	195/195	147/147	155/155
RM3455	ned	12	CT	55	ABI3700	4919671	92	-/-	90/90	-/-	90/90	102/102	-/-	-/-	90/90
RM7119	hex	12	AGTT	55	ABI3700	6694741	152	108/108	108/108	108/138	108/142	108/142	108/108	108/108	108/142
RM101(OSR2, RM151)	ned	12	CT	55	ABI3700	8828359	324	260/260	262/262	260/260	290/290	318/318	260/260	262/262	300/300
RM7102	6-fam	12	AGAT	55	ABI3700	13258404	169	169/169	185/185	181/181	-/-	173/173	-/-	-/-	165/165
RM1261	ned	12	AG	50	ABI3700	17578154	167	163/163	165/165	163/163	169/169	185/185	-/-	177/177	159/159
RM7018	ned	12	AAAG	50	ABI3700	22230170	171	169/169	169/169	189/189	117/169	157/157	-/-	169/169	117/169
RM3226	hex	12	CT	50	ABI3700	24144163	99	98/98	98/98	100/100	98/98	100/100	-/-	96/96	98/98
RM235	6-fam	12	CT	55	ABI3700	26107904	86-134	94/94	98/98	120/120	98/98	94/94	98/98	92/92	98/98
RM12(RM17)	ned	12	GA	55	ABI3700	26954668	184	157/157	157/157	157/157	157/157	157/157	171/171	165/165	157/157
RM17(RM12)	ned	12	GA	55	ABI3700	26954668	184	157/157	157/157	-/-	157/157	157/157	171/171	165/165	157/157
RM4552	6-fam	12	TA	55	ABI3700	27019670	167	173/173	171/171	173/173	179/179	177/177	-/-	-/-	209/209
RM7558	hex	12	TCAG	55	ABI3700	27085614	149	145/145	145/145	141/141	145/145	145/145	141/141	141/141	145/145
RM19	6-fam	12	ATC	55	ABI3700	NA	226	-/-	244/244	244/244	212/212	216/216	-/-	-/-	216/216
RM270	ned	12	GA	55	ABI3700	NA	120	104/104	104/104	106/106	104/104	106/106	108/108	116/116	108/108
RM277	hex	12	GA	55	ABI3700	NA	118	115/115	-/-	119/119	115/119	115/119	-/-	115/119	115/119
RM415	hex	12	AT	55	ABI3700	NA	227	224/238	224/238	224/224	238/238	234/234	-/-	242/242	238/238
RM238B	ned	1 e 6	CT	55	ABI3700	NA	150	137/137	137/137	137/137	161/161	135/135	-/-	121/125	131/131
RM325B	hex	6, 7 e 8	(CAT)TAG(CAT)	55	ABI3700	NA	200-230	210/210	210/210	210/210	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
OG23	ned	NM		56	ABI3700	NA	262	-/-	-/-	239/239	207/207	207/207	-/-	-/-	207/207
OG43	6-fam	NM		56	ABI3700	NA	80	80/80	80/80	86/86	80/80	80/80	-/-	-/-	78/78
OG56	hex	NM		56	ABI3700	NA	134	126/130	122/126	126/130	130/130	128/128	128/128	126/126	126/126
OG78	ned	NM		56	ABI3700	NA	78	64/64	58/58	58/58	78/78	78/78	64/64	64/64	76/76
OG82	6-fam	NM		56	ABI3700	NA	118-122	122/122	116/116	122/122	122/122	122/122	118/118	-/-	122/122
OG84	6-fam	NM		56	ABI3700	NA	116	119/119	117/117	119/119	119/119	119/119	119/119	119/119	119/119
OG86	6-fam	NM		56	ABI3700	NA	108	116/116	116/116	-/-	116/116	116/116	116/116	-/-	116/116
OG96	ned	NM		56	ABI3700	NA	127	122/126	122/126	110/114	128/128	128/128	126/126	112/112	128/128

RM6822	hex	NM	TCT	50	ABI3700	NA	118	103/103	103/103	103/103	121/121	121/121	115/115	112/112	121/121
RM7272	hex	NM	ATCT	50	ABI3700	NA	193	-/-	127/127	131/131	179/179	183/183	175/175	191/191	127/127
RM7276	hex	NM	ATCT	55	ABI3700	NA	128	110/114	110/114	110/114	114/114	114/114	-/-	-/-	114/114
RM7411	ned	NM	GCAC	50	ABI3700	NA	201	187/187	187/187	187/187	199/199	199/199	187/187	183/183	199/199
RM7504	ned	NM	TATC	55	ABI3700	NA	232	227/227	247/247	235/235	227/227	247/247	-/-	223/223	247/247
RM7652	ned	NM	TTTC	55	ABI3700	NA	216	279/279	211/211	211/279	215/215	219/219	211/211	-/-	219/219
RM2848*	6-fam	todos	AT	55	ABI3700	NA	262	261/261	261/261	261/261	261/261	-/-	-/-	-/-	261/261

Anexo 2 – Dados de genotipagem de 28 acessos do Banco de Germoplasma de Arroz com 34 locos microssatélites localizados na região de genes da via metabólica de amido.

ID#	ADP-glucose-SS-1 (A)	ADP-glucose-SS-1 (A)	ADP-glucose-SS-1 (A)	ADP-glucose-LS-2 (B)	ADP-glucose-LS-2 (B)	ADP-glucose-LS-2 (B)	ADP-glucose-SS-2 (C)	ADP-glucose-SS-2 (C)	DBE-Isomilase (D)	DBE-Isomilase (D)	DBE-Pullulanase (E)	DBE-Pullulanase (E)	DBE-Pullulanase (E)	DBE-Pullulanase (E)
	AGPS1.A1	AGPS1.A2	AGPS1.A3	AGPL2.B2	AGPL2.B3	AGPL2.B4	AGPS2.C2	AGPS2.C4	Dbe.Isa1.D1	Dbe.Isa1.D3	Dbe.Pul.E1	Dbe.Pul.E2	Dbe.Pul.E3	Dbe.Pul.E4
Formoso	140/140	??	245/245	234/234	228/228	223/223	163/163	184/184	223/223	??	243/243	230/230	182/182	196/196
Diamante	140/140	233/233	245/245	258/258	??	??	163/163	184/184	223/223	163/163	243/243	230/230	170/170	192/192
CNA8502	140/140	235/235	245/245	232/232	289/289	223/223	163/163	184/184	223/223	142/163	243/243	224/230	170/170	192/210
Primavera	154/154	255/255	249/249	219/219	265/265	233/233	157/157	186/186	221/221	142/163	243/243	234/234	179/179	208/208
CNAi9930	140/140	235/235	245/245	234/302	??	??	??	184/184	223/223	157/166	243/243	224/230	170/170	192/192
CNAi9022	140/140	233/233	245/245	260/260	??	??	163/163	184/184	221/221	145/145	243/243	222/230	161/161	174/208
CNAi9029	140/160	213/213	245/245	232/232	228/228	??	??	184/188	203/223	142/163	243/243	224/230	170/184	192/192
Oryzica Llanos ⁴	170/170	197/197	245/245	258/258	228/228	223/223	163/163	184/184	223/223	142/163	243/243	226/232	161/167	226/226
Oryzica Lanos ⁵	140/140	195/195	245/245	262/262	228/228	??	163/163	184/184	223/223	142/142	246/246	226/232	161/167	226/226
Oryzica1	160/160	211/211	245/245	234/234	228/228	??	163/163	186/186	203/203	142/142	243/243	222/230	164/170	192/192
5287	148/154	255/255	249/249	236/236	285/285	219/219	??	190/190	221/221	145/163	243/243	230/230	173/179	190/190
Colombial	154/154	323/323	249/249	236/236	244/244	233/233	163/163	192/192	221/221	148/148	243/243	234/234	179/179	210/210
CNA8212	154/154	255/255	249/249	??	240/240	??	163/163	184/184	221/221	142/163	243/243	??	179/179	208/208
CNA8198	154/154	??	249/249	236/236	222/222	225/225	163/163	190/190	223/223	145/163	243/243	??	179/179	208/208
C101/A51	140/140	233/233	245/245	260/260	222/222	??	163/163	186/186	223/223	145/163	246/246	230/230	182/182	194/194
Rantulasi	154/154	321/321	237/247	224/224	??	??	163/163	190/190	229/229	154/157	243/243	230/230	179/179	192/192
RS/16	154/154	183/183	237/247	??	269/269	??	159/159	184/184	221/221	139/145	243/243	230/230	155/155	??
BG 90/2	140/140	233/233	237/245	234/302	??	??	163/163	184/184	223/223	145/163	243/243	230/230	170/170	192/192
Chorinho	154/154	255/255	249/249	222/222	283/283	??	163/163	190/190	221/221	142/142	243/243	234/234	179/179	208/208
Puteca	154/154	255/255	249/249	294/294	279/279	235/235	??	186/186	221/221	142/165	243/243	234/234	179/179	208/208
Bico Ganga	154/154	255/255	249/249	232/232	279/279	215/215	163/163	190/190	221/221	145/165	243/243	230/248	179/179	230/230
Zenith	136/154	367/367	249/249	232/232	275/275	229/229	163/163	184/190	225/225	163/163	243/243	232/232	179/179	230/230
Farroupilha	154/154	247/247	247/247	224/224	??	225/225	163/163	190/190	221/221	163/163	243/243	230/230	179/179	230/230
Amaroo	154/154	249/249	249/249	222/222	283/283	219/219	157/163	184/184	221/221	154/154	243/243	248/248	179/179	214/214
Curinga	154/154	323/323	249/249	230/230	263/263	??	163/163	186/186	223/223	163/163	243/243	234/234	167/167	226/226
IRGA417	150/150	197/197	247/247	256/256	??	231/231	163/163	184/190	225/225	145/163	243/243	230/230	170/170	190/190
Mutante	140/140	233/233	245/245	232/232	341/341	??	163/163	184/184	223/223	163/163	246/246	230/230	164/170	208/208
Nipponbare	154/154	247/247	247/247	219/219	293/293	229/229	163/163	190/190	221/221	154/154	246/246	234/234	167/167	222/222

ID#	Waxy (F)	Waxy (F)	Waxy (F)	SBE 1 (G)	SBE 1 (G)	SBE 1 (G)	SBE-2a /SBE-4 (H)	SBE-2a /SBE- 4 (H)	SBE-2a /SBE- 4 (H)	SBE- 2b/SBE-3 (I)	SBE-2b/SBE- 3 (I)	SBE- 2b/SBE-3 (I)	SSII-2 (J)	SSII-2 (J)	SSII-2 (J)	SSII-2 (J)
	WAXY.F2	WAXY.F3	WAXY.F4	SBE1.G2	SBE1.G3	SBE1.G4	SBE-IIa.H2	SBE-IIa.H3	SBE-IIa.H4	SBE-IIb.I2	SBE-IIb.I3	SBE-IIb.I4	SSII-2.J1	SSII-2.J2	SSII-2.J3	SSII-2.J4
Formoso	228/228	229/229	233/239	207/207	153/153	193/193	183/183	165/165	215/215	165/165	217/217	241/241	246/246	232/232	253/253	231/231
Diamante	230/230	243/243	233/233	207/207	153/153	191/191	183/183	165/165	215/215	165/165	217/217	243/243	248/248	232/232	249/249	233/233
CNA8502	230/230	229/229	233/237	247/247	153/153	191/193	181/181	163/163	215/215	189/189	245/245	241/241	246/246	232/232	243/255	231/231
Primavera	230/230	239/239	233/233	207/207	153/153	183/183	191/191	173/173	213/213	158/165	217/217	241/249	246/246	234/234	255/255	233/233
CNAi9930	230/230	229/229	233/237	207/207	153/153	191/191	183/183	163/163	213/213	161/161	217/217	241/241	254/254	232/232	243/253	231/231
CNAi9022	230/230	229/229	233/235	207/207	153/153	??	183/183	165/165	215/215	189/189	245/245	231/239	248/248	232/232	253/253	231/231
CNAi9029	230/230	229/229	233/237	207/207	153/153	193/193	183/189	173/173	213/213	165/165	217/217	241/241	246/246	232/232	245/253	231/231
Oryzica Llano	230/230	229/229	229/237	207/207	153/153	193/193	191/191	165/165	213/213	165/165	217/217	241/241	246/246	232/232	243/253	231/231
Oryzica Lanos	230/230	229/229	229/237	207/207	151/151	??	191/191	173/173	215/215	165/165	219/219	241/241	240/242	232/232	245/255	233/233
Oryzical	230/230	247/247	233/233	207/207	151/151	193/193	191/191	173/173	213/213	165/165	217/217	241/241	240/242	232/232	253/253	231/231
5287	230/230	243/243	233/233	247/247	153/153	191/191	185/191	173/173	213/213	165/165	217/217	249/249	234/236	234/234	241/249	227/227
Colombial	230/230	243/243	233/233	209/253	153/153	179/185	185/191	173/173	213/213	165/165	217/217	249/249	242/242	234/234	255/255	233/233
CNA8212	230/230	247/247	235/235	247/247	151/151	183/189	??	173/173	213/213	158/165	245/245	239/239	248/248	232/232	255/255	233/233
CNA8198	230/230	247/247	235/235	241/241	151/151	189/189	191/191	173/173	213/213	189/189	245/245	239/239	244/246	234/234	249/249	225/225
C101/A51	230/230	223/223	233/233	207/207	153/153	185/191	183/183	165/165	215/215	165/165	217/217	241/241	244/246	232/232	253/253	231/231
Rantulasi	230/230	241/241	233/235	241/241	149/153	??	191/191	163/163	213/213	165/165	217/217	241/241	234/236	234/234	253/253	227/227
RS/16	??	225/225	233/233	207/207	153/153	199/199	183/183	165/165	213/213	165/165	??	239/239	208/208	234/234	253/253	231/231
BG 90/2	228/228	229/229	239/239	207/207	153/153	191/191	175/181	163/163	215/215	165/165	217/217	241/241	254/254	232/232	253/253	231/231
Chorinho	230/230	247/247	235/235	207/207	151/151	183/189	191/191	173/173	213/213	189/189	245/245	241/241	242/244	234/234	255/255	233/233
Puteca	230/230	247/247	233/233	207/207	151/151	191/191	191/191	173/173	213/213	189/189	245/245	239/239	244/246	234/234	255/255	233/233
Bico Ganga	230/230	247/247	235/235	207/207	151/151	183/189	191/191	173/173	213/213	189/189	245/245	239/239	242/244	234/234	255/255	233/233
Zenith	230/230	243/243	233/237	241/241	151/151	189/189	189/189	171/171	213/213	165/165	217/217	249/249	238/240	232/232	253/253	229/229
Farroupilha	230/230	243/243	235/235	207/207	151/151	183/189	183/189	171/171	213/213	165/165	217/217	241/249	236/238	234/234	249/249	227/227
Amaroo	230/230	245/245	233/233	243/243	147/147	193/193	191/191	173/173	213/213	165/165	219/219	249/249	236/246	234/234	249/249	227/227
Curinga	230/230	239/239	233/233	243/243	151/151	179/185	191/191	173/173	215/215	165/165	219/219	249/249	238/240	234/234	247/253	225/225
IRGA417	230/230	229/229	237/237	207/207	151/151	183/183	181/181	163/163	215/215	165/165	217/217	243/243	246/246	232/232	253/253	231/231
Mutante	230/230	229/229	225/233	207/207	149/149	193/193	177/183	165/165	215/215	165/165	217/217	243/243	248/248	232/232	253/253	231/231
Nipponbare	230/230	243/243	233/233	245/245	147/147	189/189	191/191	173/173	213/213	165/165	217/217	241/241	244/244	234/234	249/249	227/227

	SSII-3 (L)	SSII-3 (L)	SSII-3 (L)	SSII-3 (L)
ID#	SSII-3.L1	SSII-3.L2	SSII-3.L3	SSII-3.L4
Formoso	153/167	222/222	191/199	227/227
Diamante	153/167	192/192	191/199	203/203
CNA8502	161/167	228/228	191/199	227/227
Primavera	153/153	192/195	191/199	199/199
CNAi9930	153/167	216/216	189/197	227/227
CNAi9022	153/161	149/149	199/213	199/199
CNAi9029	153/167	222/222	189/199	219/227
Oryzica Llano	153/167	149/149	191/199	199/203
Oryzica Lanos	153/167	149/149	191/199	199/203
Oryzica1	153/167	149/149	189/199	?/?
5287	153/153	159/159	189/199	199/199
Colombia1	153/153	180/180	189/199	215/215
CNA8212	153/167	149/149	191/199	203/203
CNA8198	153/153	192/195	191/199	199/199
C101/A51	153/167	192/ 195	195/203	195/199
Rantulasi	153/153	225/225	191/199	199/199
RS/16	153/153	?/?	199/199	199/199
BG 90/2	153/167	222/222	199/199	227/227
Chorinho	165/165	198/198	191/199	211/211
Puteca	155/155	192/192	191/199	199/199
Bico Ganga	155/155	192/192	191/199	199/199
Zenith	153/167	192/195	191/199	199/199
Farroupilha	167/167	195/198	191/199	199/199
Amaroo	167/167	183/183	191/199	199/199
Curinga	175/175	162/62	191/199	203/203
IRGA417	153/167	149/149	191/199	203/203
Mutante	153/161	228/231	191/199	227/227
Nipponbare	167/167	246/246	199/199	195/195

Anexo 3. Dados genotípicos de linhagens puras recombinantes (RILs) para tolerância ao frio com a utilização de marcadores microssatélites.

data type ri self

160 158 0

	249	250	251	253	254	255	256	258	259	260	261	262	264	265	266	267	268	269	272	274	275	276	279	280	281	282	283	284	285	286	287	288	289	290	291	292	
*OG26	B	A	A	A	-	B	B	A	A	A	A	B	A	A	B	B	A	A	A	A	A	-	A	A	B	B	A	A	-	A	B	A	B	B	A	A	
*OG32	A	B	B	B	-	B	B	A	B	-	B	A	A	B	A	A	A	A	B	A	B	B	A	B	A	B	A	-	B	A	A	B	A	B	A	-	
*OG43	-	B	-	B	A	A	B	A	A	B	B	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	-	B	B	A	B	B	B	A	A	A	B	A	A	B	A	
*OG74	-	B	A	A	B	A	B	B	B	-	B	B	A	A	B	A	A	A	A	A	-	A	A	A	B	A	A	A	-	A	A	B	B	A	B	A	
*OG79	-	B	B	A	A	B	B	B	A	A	A	B	A	B	A	B	B	B	B	A	A	B	B	A	B	B	B	B	A	B	B	B	A	-	B	A	
*OSR30	-	A	A	A	B	-	B	-	B	-	B	B	A	B	B	B	A	-	-	-	B	B	A	-	B	-	B	-	B	B	B	A	A	B	A	B	
*RM1	B	B	A	-	A	-	A	A	A	B	A	A	A	A	A	-	B	A	A	A	B	B	A	-	B	B	-	A	B	-	A	-	A	B	B	A	
*RM5	B	B	A	B	A	B	A	-	A	A	A	A	A	A	B	-	A	A	A	A	B	B	A	B	A	B	B	B	A	B	A	B	A	A	B	A	
*RM55	-	-	B	-	-	-	B	B	B	-	B	B	B	B	B	-	A	B	-	B	A	A	B	-	A	A	B	B	A	-	-	-	B	A	A	-	
*RM144	A	A	A	B	A	-	B	B	B	-	A	B	B	A	A	-	A	A	-	-	A	-	B	B	B	B	A	A	-	B	B	A	A	A	A	B	
*RM184	-	-	A	A	-	B	B	B	-	B	-	B	B	A	B	A	A	B	-	A	-	-	A	A	A	A	A	B	A	A	-	A	-	B	B	A	
*RM204	A	B	A	A	-	A	A	A	A	A	A	B	B	A	B	A	A	B	A	B	A	-	B	-	B	A	B	A	A	B	B	A	B	A	B	A	
*RM217	A	B	A	-	B	-	A	A	A	A	A	B	B	A	A	-	A	B	B	B	B	B	B	-	B	A	B	A	A	B	B	A	B	A	B	A	
*RM224	B	B	A	B	A	B	-	-	-	B	-	A	A	A	A	A	-	A	-	B	-	A	B	B	B	B	A	A	B	A	A	B	A	B	-	-	
*RM225	A	B	A	A	B	A	A	A	A	A	A	B	B	A	B	A	A	B	-	B	-	B	B	B	B	A	B	A	A	B	B	A	B	A	B	A	
*RM235	B	A	B	B	A	A	A	-	B	-	A	B	B	B	B	A	B	A	A	B	-	-	B	B	B	B	B	B	-	B	A	A	-	B	B	A	
*RM242	A	B	A	B	B	A	-	-	B	A	B	B	B	A	B	A	A	B	-	A	A	-	A	A	-	A	A	B	-	A	A	B	B	A	B	A	
*RM246	A	-	A	A	-	A	A	-	B	-	A	B	A	A	A	A	B	-	B	B	A	A	B	A	B	-	-	A	B	A	A	B	B	A	A	A	
*RM254	B	A	A	A	A	A	B	-	-	A	A	A	A	A	A	-	A	A	-	-	-	A	B	A	B	A	A	B	A	A	-	A	A	A	A	A	
*RM270	-	A	B	B	A	A	A	B	B	B	A	B	B	B	B	A	B	A	A	-	B	-	B	-	B	B	B	B	-	B	A	A	-	B	B	A	
*RM307	A	A	B	A	B	B	B	-	-	B	B	B	-	B	A	B	A	A	A	B	A	A	B	A	B	A	A	B	B	B	A	A	B	B	A	B	
*RM335	A	B	B	B	-	B	B	A	A	-	B	A	B	B	B	B	A	A	A	B	A	A	B	B	B	A	A	B	B	B	A	A	B	B	A	B	
*RM338	B	A	B	A	A	B	A	B	A	-	A	B	A	A	A	A	A	A	A	B	A	B	B	A	A	A	A	A	A	B	B	A	B	A	A	A	A

*RM341 - A A A B A A - - A A A - B B - A B A A A A A B A A A B - B A A B B B B
 *RM345 A A B A A B A - A A A A A A B - B B A A A B A B B A - A A A A A A A -
 *RM348 A A B A B B A A B - A A B B A A B A B B B A A A B B B B - A B B A B B -
 *RM349 - B - B - A - B A A A A B B B B A A A B B - A A B B A B B B B B A B A
 *RM418 A B B B B A - - B B B - A B B B A B - A A B B - B - A A B - - A B A A A
 *RM474 A B A B A B A A B - A B A A A A A A A - A - A A A A B A A A B B B B A
 *RM489 B B A - A - B - B B A A A B A B B B - B B - A B B B A A B B A B B A A A
 *RM510 B B B B - B B B - - B A A B A B B A - A B A A A A B A - B A A B A B A -
 *RM569 B B A A A B A A B A A A B B A A - A A B A B A B - B B B - B A B B A A B
 *RM1075 - - A B B A B - - - A - B A A - B B - - A - B B B B A B - - B - - - B A
 *RM1243 - A B B A B B - B - A B B A B B A A B A A B B B A B A A A B B A B A B A
 *RM3153 B A A A A B B B A B A A B B A A A B A A B A B B A B A A A B B B A B B A
 *RM3404 - B B B B A A A B - B B B B B B A B B A A B B B A A A - B A A B A A A
 *RM3428 A A A A B B A - B B A A A B A A A B A A - - A A A A B A A A A B - A B A
 *RM3455 - A B A B A A A A - - B A A A B A B A B B B A B B B A B A A B A A A
 *RM3740 - A A A A B A A A - A A A A A A B A A - B A A A A B A A B B A - A B B -
 *RM5359 - B A B A A A A A - A A B A A - B A - B B B A A B B A B B - A - A B B -
 *RM6314 A - B A B A B A A A B - A B A - A - A A - - A A B A A A - B A A B - A B
 *RM6925 - B B B A A A - A A A A B A A A B - B B - A B - A - A B A A A B B A B -
 *RM7033 B A A B - B B A A B A A B A A A B A A A B A B B A B B B B A B B B B A B A B A
 *RM7080 - A B A A A A B A A A A B A A A A B B B A A B B B A B A A B A A A B - A
 *RM7161 A A B B A B B - - B B B A A B B A B B A A B B B A B A A A A B A B A B A
 *RM7205 B - A A A B B - B A B - B B B - B B A - A - - - A B A A B - A - - - B B
 *RM7213 B B B A B - B A A - A A - A A B B B - B - A B A - A B B - B - A B A A B
 *RM7275 A A A A - B B B - B A A A B A A A A A A - A A A A A B A A A A B A A - A
 *RM7285 B A A A - B B B A - A A B B A A A B A A - - B B A B A A A B B A A B B A
 *RM7286 A B B B A B A - A A B - B A A B A B - B A B B A - B A - B A - B - A A B
 *RM7300 - A B A B B B - A A A B B A B B A A - A A B A A B B A B B A B - B B B A
 *RM7306 - B A A B A B A B A B A A A B A B B - A A A A A A B B B - B B - A A B A

*RM103	B	A	B	A	A	B	A	-	A	-	A	A	A	A	B	B	B	A	A	A	B	A	B	B	A	-	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	-
*RM152	B	B	B	B	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	B	B	B	B	A	A	B	B	A	A	A	B	A	A	A	B	B	A	B	A	A	
*RM201	A	B	B	B	B	A	A	A	B	A	B	B	B	A	B	A	A	B	B	A	A	A	A	A	-	B	A	B	A	B	A	B	B	A	A	A	A
*RM206	A	A	A	B	A	A	B	-	B	B	A	B	A	A	B	B	A	A	-	A	B	A	B	B	B	B	A	A	B	A	A	B	A	A	A	B	
*RM207	A	-	B	B	A	A	A	B	A	A	B	B	B	B	A	B	A	B	A	B	B	B	B	A	B	A	B	A	-	B	A	A	B	B	B	A	
*RM210	A	A	A	B	A	B	B	B	A	A	A	A	B	A	B	A	A	B	A	B	B	A	A	B	A	B	A	A	-	B	B	B	B	B	B	B	
*RM222	A	B	A	B	A	B	A	A	B	-	A	B	A	A	A	A	A	A	-	B	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	B	B	B	-	B	A	
*RM229	A	A	B	A	B	B	B	B	B	A	A	B	A	B	A	A	A	A	B	B	A	B	B	A	A	B	A	A	B	A	B	A	B	A	A	A	
*RM231	B	B	A	A	A	B	A	A	B	A	-	A	B	B	A	A	-	A	A	B	B	B	A	B	A	B	B	B	-	B	A	B	B	A	A	A	
*RM234	A	B	B	B	A	A	B	A	B	A	B	B	B	B	B	B	A	B	B	A	A	B	B	A	A	B	A	A	B	B	A	A	B	A	A	A	
*RM283	B	B	A	A	A	B	A	A	A	-	A	A	A	A	A	-	B	A	A	A	B	B	A	A	B	B	A	A	B	-	A	-	A	B	B	-	
*RM284	A	A	A	A	A	A	B	B	A	A	A	A	B	A	B	A	A	A	B	B	A	A	B	A	B	A	A	A	B	B	B	A	B	B	B		
*RM315	A	B	B	A	A	A	B	B	B	A	A	B	A	B	A	B	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	B	B	A	B	B	A	A	B	A	
*RM316	B	B	B	A	A	A	A	B	B	A	B	B	A	A	B	A	B	A	B	B	A	A	A	A	-	A	B	A	-	A	A	A	A	A	A	B	
*RM408	B	B	B	B	A	A	A	A	A	-	A	A	B	A	A	B	B	-	B	B	A	A	B	-	A	-	A	-	A	A	A	B	B	A	B	A	
*RM420	A	A	A	A	A	B	B	A	A	-	B	B	B	B	A	B	A	A	A	B	A	A	B	A	-	-	A	A	A	-	A	A	A	B	B	B	
*RM431	A	B	A	A	A	A	B	A	B	A	A	B	A	B	A	A	B	A	A	A	B	A	A	A	A	A	B	A	B	A	B	B	B	A	B	A	
*RM481	A	B	B	B	A	B	B	A	B	-	A	B	B	A	B	B	A	A	-	A	A	A	B	B	A	B	A	A	A	B	B	A	B	A	B	A	
*RM445	A	B	B	B	A	B	A	A	B	B	B	B	A	B	B	B	A	B	A	A	A	B	B	B	B	A	A	A	A	B	B	A	B	A	A	A	
*RM560	A	B	B	B	B	A	A	A	B	A	B	B	B	B	B	B	A	B	A	A	A	B	B	B	B	A	A	A	A	B	A	A	B	A	A	A	
*RM574	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	B	A	B	A	B	A	-	A	B	A	A	B	B	A	A	A	B	B	A	A	A	A	B	B	A	A	
*RM1164	B	A	B	A	-	-	A	-	A	B	A	B	A	B	B	A	A	A	A	B	B	A	B	A	A	A	A	B	B	B	A	B	A	A	A	A	
*RM1937	B	B	A	A	B	B	B	A	A	A	A	B	B	A	-	B	A	A	A	A	A	B	A	A	B	B	A	B	A	A	B	A	B	B	B	A	
*RM3370	B	B	B	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A	B	-	B	-	A	B	A	-	A	B	B	B	B	B	A	-	A	B	A		
*RM3461	B	B	A	A	A	B	B	-	B	-	A	A	A	B	A	A	A	B	B	-	A	A	A	B	A	A	A	B	B	A	B	B	A	A	A	A	
*RM5349	A	A	B	A	B	B	B	-	B	-	B	B	A	B	A	A	A	A	A	B	A	B	B	-	B	B	A	A	-	A	B	A	A	B	A		
*RM5638	B	B	A	B	A	B	B	A	A	B	B	A	A	B	B	A	A	A	A	A	B	B	B	B	B	B	B	B	A	A	A	B	A	A	B	A	
*RM7076	B	A	A	B	B	A	A	B	A	A	A	B	B	B	A	B	A	A	A	B	B	A	A	A	B	B	A	B	B	B	B	B	B	B	A	B	A
*RM7110	A	A	B	B	B	A	A	A	B	-	B	B	B	B	B	B	A	B	A	A	A	B	B	B	-	B	A	A	-	B	B	A	B	A	A	A	

*RM7124	B	B	A	B	A	B	A	A	B	A	A	A	A	B	A	A	A	B	A	A	B	A	A	A	B	B	B	B	A	A	-	A	B	A			
*RM7200	A	A	B	B	A	B	B	-	A	B	B	A	B	B	A	B	A	B	A	A	B	B	B	A	A	B	B	B	A	A	B	B	A	B			
*RM7226	B	A	A	A	B	B	A	A	-	B	A	A	A	B	-	A	A	B	A	A	A	A	A	A	B	B	A	A	A	A	A	A	B	A			
*RM7269	A	A	B	A	B	B	B	A	B	A	B	A	B	B	A	A	B	A	B	B	A	A	B	B	-	A	B	A	B	B	B	A	A	A	B		
*RM7391	A	A	-	-	B	B	A	A	-	B	A	A	A	B	A	A	A	B	A	A	-	A	B	A	A	A	B	A	A	A	A	B	A	A	B	A	
*RM7423	A	A	A	A	A	B	B	A	A	B	B	B	B	B	A	B	A	A	A	B	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	-	A	A	A	B	B	B
*RM7504	A	A	B	A	A	B	B	A	-	B	B	B	A	B	A	B	A	A	A	A	A	A	B	A	-	A	A	B	B	B	A	A	B	B	A	B	
*RM7511	B	B	-	A	A	B	B	A	-	A	B	A	B	B	A	B	B	A	-	B	A	B	A	A	-	B	A	A	B	B	A	B	A	A	A	B	
*OG10	B	B	A	A	A	A	A	B	B	A	B	B	A	A	B	A	B	A	B	B	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	B
*OSR28	A	B	A	B	B	A	A	A	B	A	B	B	B	A	B	A	B	B	B	A	A	A	A	A	-	B	A	B	-	A	A	B	B	A	B	A	
*OSR14	B	A	A	B	B	B	B	A	B	B	A	A	B	A	A	A	B	A	B	A	A	B	B	B	A	A	A	B	B	B	B	B	A	A	B	A	
*OSR34	B	B	B	B	A	A	A	A	A	-	A	A	B	A	A	A	B	-	B	B	A	A	B	-	A	-	A	B	A	A	A	B	B	A	B	A	
*RM505	A	B	B	B	A	A	A	A	B	-	A	B	B	B	-	B	A	B	A	A	A	B	B	A	B	B	A	A	B	B	A	A	B	A	A	A	
*OSR22	A	B	B	B	-	A	A	A	B	A	B	B	-	B	-	B	A	B	B	A	A	B	B	-	B	A	A	A	-	-	A	A	B	A	A	A	
*RM336	A	B	B	B	B	A	A	A	-	A	B	B	B	B	B	B	A	B	B	-	A	B	B	-	B	B	A	A	B	-	A	A	B	A	A	A	
*RM473	-	A	B	A	A	B	A	-	-	B	A	B	A	B	B	A	A	A	A	-	B	A	B	-	A	A	A	B	-	B	A	B	A	A	A	A	
*RM7441	A	B	B	B	A	A	B	A	-	A	A	B	B	B	B	B	A	-	A	-	A	B	-	-	A	B	A	A	A	B	A	A	B	A	A	A	
*RM10	A	B	B	B	B	A	A	A	B	A	B	B	B	B	B	B	A	B	B	A	A	B	B	A	B	B	B	A	-	B	A	A	B	A	A	A	
*RM248	A	A	A	A	A	B	B	A	A	B	B	B	B	B	A	B	A	A	A	B	A	A	B	A	A	A	B	A	A	B	A	A	A	B	B	B	
*RM3555	A	B	A	B	A	A	B	A	A	B	B	B	A	B	A	B	A	B	B	B	A	A	B	A	A	A	A	A	A	-	B	A	A	A	B	B	B
*RM182	A	B	B	-	B	A	A	A	B	A	B	B	B	B	B	B	A	B	A	A	A	B	B	B	B	B	A	A	A	B	A	A	B	A	A	A	
*RM7283	A	A	B	B	B	B	A	A	B	B	A	A	A	B	-	A	A	B	A	A	A	A	B	A	A	A	B	A	A	A	A	B	A	A	B	A	
*RM9	B	B	A	B	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	B	A	A	A	B	B	-	B	B	B	B	B	-	B	-	B	A	A	B	A	
*RM5414	A	B	B	B	A	B	B	A	A	B	B	A	B	B	A	B	A	A	A	B	A	A	-	B	-	A	A	B	B	B	-	A	B	B	A	B	
*OG66	B	B	-	A	A	B	B	A	B	-	A	A	A	B	A	B	B	B	A	B	B	B	-	B	B	B	A	A	B	B	-	B	B	A	A	A	
*RM7446	B	A	-	A	A	B	A	B	A	B	A	A	B	B	A	A	A	B	B	B	A	A	-	B	A	-	A	A	A	B	A	B	A	B	B	B	
*OSR15	A	A	B	A	B	B	A	A	A	A	A	A	B	B	A	A	B	A	-	B	B	A	A	A	-	B	B	B	A	A	B	B	A	B	B	B	
*RM7652	B	B	A	B	B	A	B	A	A	A	A	A	B	B	A	A	B	B	B	B	A	B	B	B	B	B	A	B	-	A	B	A	B	A	B	A	
*RM38	B	B	A	B	A	A	-	B	-	B	B	A	B	A	-	A	-	B	B	B	A	-	B	-	B	A	A	B	A	A	A	B	A	A	B	A	

*RM300	B	B	A	B	B	A	A	A	-	B	A	A	B	A	-	-	-	B	-	A	A	-	B	B	A	A	A	B	-	B	B	A	B	B	A	B						
*OG7	-	A	B	A	-	-	-	-	-	A	-	-	-	-	A	A	A	-	-	-	B	A	B	B	A	A	B	A	A	B	A	B	A	B	A	A	A	A				
*RM209	A	A	B	A	B	-	B	B	B	B	A	A	A	B	A	A	A	A	A	B	A	-	-	B	A	B	A	A	A	A	B	A	A	B	A	A	B	A				
*RM411	-	A	B	A	A	-	A	A	A	B	A	B	B	B	A	B	A	A	B	B	B	A	A	A	-	A	A	B	B	A	A	B	B	A	A	A	A					
*RM7279	A	A	B	A	B	-	-	A	-	A	-	-	-	-	A	B	A	-	-	-	A	A	-	-	B	A	A	B	B	B	A	A	B	B	A	B	A	B				
*RM22	A	B	A	A	A	-	A	-	-	A	-	-	-	-	A	-	B	-	-	-	A	A	A	B	B	B	-	B	A	-	A	B	-	A	-	B	-	B				
*RM3412	B	B	B	B	A	A	B	A	A	B	B	A	B	B	B	A	A	A	-	B	A	B	B	B	A	B	A	B	A	A	A	B	A	B	B	A	B	B	A			
*F4	A	A	A	B	B	B	A	-	A	A	A	B	B	A	B	A	A	B	A	B	A	A	A	A	B	A	B	B	A	B	B	A	B	B	A	B	-	B	A			
*G3	B	A	B	A	A	B	A	-	A	B	A	A	A	A	A	B	B	B	A	A	A	B	A	B	B	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	-			
*C4	B	A	A	-	-	-	A	B	A	B	A	A	B	B	A	A	A	B	A	B	A	A	B	B	A	B	A	A	A	A	B	B	A	A	B	B	A	A	B	B	A	
*OG81	A	B	A	B	B	A	B	B	B	B	B	B	B	A	B	A	-	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A	B	B	A	B	B	A	B	B
*RM220	B	B	A	A	A	B	A	A	A	A	-	A	A	A	A	A	B	A	A	A	B	B	A	A	A	B	A	A	B	B	A	A	A	A	B	B	A	A	A	B	B	A
*RM437	A	A	B	A	A	B	B	A	-	B	B	B	A	B	A	B	A	A	A	A	A	A	B	A	B	A	A	B	B	B	A	A	B	B	A	A	B	B	A	B		
*RM484	B	A	B	A	-	B	B	A	A	A	A	B	A	A	B	B	A	A	A	A	A	B	-	A	-	B	A	A	-	A	B	A	B	B	A	B	B	A	A	A		
*RM500	A	A	B	B	B	A	A	A	-	A	B	B	B	B	B	B	-	B	A	A	A	B	B	B	-	B	A	A	A	B	B	A	B	B	A	B	A	A	A	A		
*RM7215	B	B	A	B	B	A	B	A	A	A	A	A	B	A	A	B	B	B	B	A	A	B	B	B	-	B	A	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A		
*RM7389	B	A	B	B	A	-	B	B	A	A	-	A	B	B	B	B	-	A	B	B	B	B	A	-	B	A	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	-	B	-	
*RM1261	B	A	B	B	B	A	-	-	A	A	B	B	A	B	A	B	A	B	-	B	A	B	-	-	B	B	B	B	-	B	A	A	B	A	A	B	A	A	A	A		
*I3	B	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	B	B	B	B	A	B	A	A	A	A	A	B	A	-	A	B	B	B	A	A	B	B	B	B	B	B	B	B		
*L2	B	B	B	A	A	A	A	A	-	A	A	A	B	A	B	B	A	B	-	B	-	A	B	A	B	A	B	B	-	-	-	A	B	A	B	A	B	A	B	A		

data type ri self

160 158 0

	293	294	295	296	297	298	299	300	301	302	304	305	306	307	312	316	317	318	319	321	322	324	325	326	327	328	330	331	332	333	334	335	336	338	339	340	
*OG26	A	A	A	B	A	A	A	A	B	A	B	B	A	A	B	-	A	B	B	-	A	-	A	-	-	-	A	A	B	B	-	A	A	B	B	A	
*OG32	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	B	B	-	A	-	B	A	A	A	A	A	B	A	A	B	B	B	B	A	A	A	A	B	B	A
*OG43	A	B	B	-	A	A	A	A	B	-	B	A	B	A	A	A	-	B	B	A	B	B	B	A	A	B	B	B	B	A	-	A	A	B	A	B	
*OG74	B	B	A	B	B	A	A	A	B	A	A	A	B	-	-	-	-	B	A	-	-	A	A	A	B	B	B	B	B	A	B	A	B	A	A	A	
*OG79	A	A	B	A	-	B	A	B	B	B	B	A	B	A	A	A	-	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	B	A	B	A	A	A	B	B	A
*OSR30	A	B	B	B	-	B	-	-	B	A	-	A	B	A	A	B	B	B	A	-	B	B	-	B	B	B	A	A	B	A	B	B	A	B	A	B	
*RM1	B	B	B	A	B	A	A	B	B	A	B	A	A	A	A	-	A	A	B	B	A	-	B	-	B	B	A	B	B	A	B	B	A	A	B	A	
*RM5	B	B	B	A	A	B	A	-	B	A	B	A	B	A	B	-	A	A	B	-	B	B	-	A	A	A	A	B	A	A	A	A	B	A	A	A	A
*RM55	A	A	A	B	A	B	-	-	A	B	A	B	B	B	-	-	B	-	A	A	B	A	A	-	A	A	-	A	A	B	A	A	B	B	A	B	
*RM144	B	B	-	B	A	A	A	A	A	A	-	-	A	A	-	-	A	A	B	B	A	A	A	-	-	B	A	A	B	A	A	B	A	A	A	B	
*RM184	A	A	A	-	A	A	-	A	-	A	A	B	A	A	-	-	A	A	B	A	B	A	-	B	-	A	A	A	B	B	A	A	A	B	-	-	
*RM204	A	B	B	B	A	B	B	B	A	B	A	-	B	-	A	-	A	B	B	-	A	-	B	A	B	-	B	A	A	A	B	B	B	A	A	B	
*RM217	A	B	B	B	A	B	-	B	-	B	A	B	B	A	A	-	A	B	B	A	A	B	B	A	B	B	A	A	A	A	B	B	B	A	B	B	
*RM224	A	B	A	A	A	B	-	B	A	A	-	B	B	B	B	A	B	-	B	B	B	-	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B
*RM225	A	B	B	B	A	B	B	B	-	B	A	B	B	B	A	A	A	B	B	A	A	B	B	A	B	B	B	A	A	A	B	B	A	A	B	B	
*RM235	A	B	B	B	-	A	-	A	A	B	A	B	B	A	A	A	A	B	A	A	B	B	A	A	B	B	B	B	A	A	-	B	B	B	A	B	
*RM242	B	B	A	A	A	A	-	A	B	-	A	A	B	B	A	A	B	A	A	A	A	A	A	-	A	A	-	B	B	B	B	A	A	A	A	A	B
*RM246	A	B	-	A	A	B	B	A	A	B	-	B	A	A	A	-	-	B	A	A	-	A	A	A	A	A	A	B	B	A	-	A	B	A	-	A	
*RM254	B	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	B	B	-	B	B	A	B	B	A	-	A	A	A	-	A	A	A	A	A	A	A	B	B	A	B	A
*RM270	B	B	B	B	A	A	A	A	-	B	A	B	B	A	A	A	A	B	B	A	B	B	A	A	A	B	B	B	A	A	A	A	B	B	B	-	B
*RM307	A	A	-	A	B	B	A	B	B	B	B	B	B	A	-	A	A	A	B	B	A	A	A	A	B	-	A	B	A	A	B	A	A	A	B	B	
*RM335	A	A	A	B	A	A	A	B	A	B	B	B	B	B	A	-	B	A	A	B	A	B	B	A	B	-	A	B	B	A	B	A	A	B	A	B	
*RM338	A	A	A	A	B	A	-	B	A	A	A	B	B	A	B	A	B	B	A	A	A	B	B	-	A	-	B	B	A	B	A	A	B	B	A	-	
*RM341	A	B	-	A	A	A	B	A	B	-	A	A	B	-	-	A	A	B	A	B	B	A	B	A	A	B	A	B	A	A	B	A	B	-	B	-	
*RM345	A	A	B	B	A	B	B	A	A	A	A	B	-	B	A	-	A	A	A	B	A	A	-	B	B	A	-	A	A	B	A	A	B	B	A	A	
*RM348	A	A	A	A	B	A	-	-	B	B	B	A	B	-	B	B	A	-	A	B	B	B	B	A	A	B	B	B	A	B	B	A	A	A	A	-	

*RM349	B	A	B	B	-	-	B	B	A	A	B	B	A	-	B	-	A	B	B	B	B	B	B	A	A	B	B	-	B	A	B	A	A	B	A	B
*RM418	A	B	-	-	A	A	-	B	A	A	A	A	A	B	-	-	A	B	B	A	A	A	-	B	A	B	A	B	B	A	A	A	B	-	-	-
*RM474	B	B	B	B	B	-	A	B	B	A	B	B	A	A	A	A	B	A	B	B	B	B	B	A	B	A	A	B	B	B	A	A	A	A	B	B
*RM489	A	B	-	A	A	B	-	B	A	A	B	B	-	A	B	A	B	B	B	A	A	B	-	B	A	-	B	B	A	B	A	B	A	B	A	B
*RM510	B	A	A	A	B	A	A	A	-	A	B	A	A	-	-	A	-	A	A	B	B	A	A	B	A	A	B	B	B	B	A	A	A	B	B	A
*RM569	A	B	-	A	A	A	A	B	A	A	B	B	B	A	B	-	A	B	A	-	B	A	A	-	B	B	B	A	A	B	B	A	A	B	A	B
*RM1075	A	B	B	-	A	B	-	-	-	-	B	B	B	B	-	-	B	B	-	-	B	A	-	A	B	-	B	B	B	A	B	B	B	A	-	-
*RM1243	-	B	A	A	A	-	B	A	A	B	A	A	B	B	-	-	-	B	A	-	-	A	A	B	B	B	B	B	B	A	A	A	B	A	A	A
*RM3153	A	A	A	A	A	A	B	A	A	B	B	A	A	A	B	-	A	B	A	-	A	A	B	B	A	B	B	A	B	B	A	B	B	B	B	B
*RM3404	A	B	B	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	B	-	-	-	B	B	-	-	B	B	B	A	B	A	B	B	A	B	B	B	B	B	
*RM3428	B	A	A	A	A	-	-	A	A	-	A	B	A	A	A	-	A	B	A	A	A	B	B	B	A	B	B	A	A	A	B	A	A	A	B	B
*RM3455	A	A	A	A	A	A	A	B	B	A	B	B	A	A	A	-	B	-	A	B	B	A	B	A	A	A	B	A	B	B	A	A	A	A	A	B
*RM3740	B	-	B	A	B	A	A	B	-	A	B	A	A	A	A	-	-	A	B	B	A	A	A	A	A	B	A	B	B	A	-	B	A	A	B	B
*RM5359	B	A	B	A	B	A	A	A	B	B	B	A	B	A	A	A	-	A	A	B	A	-	A	A	B	A	A	-	B	A	A	A	A	B	B	B
*RM6314	A	A	A	A	B	B	-	B	A	-	B	A	B	A	A	-	B	B	B	-	A	B	B	A	B	-	A	B	B	B	-	A	A	-	A	-
*RM6925	B	A	A	B	B	A	-	-	A	B	B	B	A	-	-	A	A	A	B	B	A	A	B	A	A	A	B	B	A	B	-	A	B	A	B	-
*RM7033	A	B	B	A	-	B	A	A	B	B	B	-	A	B	A	A	A	B	A	-	B	A	A	B	B	B	B	B	B	A	B	B	B	A	A	A
*RM7080	B	B	A	A	A	B	B	B	A	B	B	A	A	A	B	A	A	A	-	-	A	A	A	A	A	B	B	B	B	A	A	A	B	B	-	A
*RM7161	A	B	A	A	A	A	-	A	A	B	B	A	B	A	-	B	-	B	B	-	A	A	B	A	B	B	B	B	A	A	A	A	B	A	-	
*RM7205	A	A	A	B	B	A	-	-	-	-	-	A	B	A	A	-	A	A	B	-	B	A	B	A	A	-	A	B	A	B	-	A	B	A	B	-
*RM7213	A	B	B	B	A	A	A	B	A	A	B	B	B	B	A	A	A	A	A	A	B	A	B	A	A	A	A	A	A	A	-	A	B	B	B	B
*RM7275	A	A	B	-	A	A	-	A	A	-	A	A	A	A	-	B	-	B	B	-	A	A	B	B	B	B	B	A	B	A	B	A	A	A	-	-
*RM7285	A	A	A	A	A	A	B	A	A	B	B	A	-	-	B	-	A	B	A	B	A	A	A	B	A	B	B	A	B	B	A	B	B	B	B	B
*RM7286	B	-	A	B	A	A	-	B	A	A	A	B	A	A	-	-	B	A	B	A	A	A	-	A	A	B	A	B	B	A	B	A	B	B	A	-
*RM7300	A	A	A	B	A	A	-	B	B	A	B	B	A	B	B	A	-	B	B	B	B	B	B	B	A	-	A	A	A	B	B	B	A	A	B	B
*RM7306	B	A	A	B	A	A	B	B	B	B	A	B	B	A	A	A	-	A	A	A	A	A	B	A	B	B	B	B	A	B	A	A	A	A	B	-
*RM7338	A	B	B	A	A	A	B	A	A	B	B	A	B	A	A	B	B	B	B	A	-	A	-	-	A	B	A	B	A	A	-	A	-	B	B	B
*RM7390	B	B	A	A	A	A	B	A	B	-	A	A	B	A	A	-	A	-	A	-	B	A	A	A	B	B	A	B	B	B	A	A	B	B	A	A
*RM7463	A	A	A	A	A	A	B	-	A	-	A	B	A	A	-	B	A	B	A	B	A	B	B	B	A	B	B	A	A	A	B	A	A	A	B	B

*RM7492	B	B	B	A	B	A	A	B	B	A	B	-	A	A	-	-	B	A	B	B	B	B	B	-	B	A	A	B	B	B	B	A	A	A	B	B		
*RM7580	A	A	A	A	A	A	-	-	A	-	-	-	A	A	-	A	A	B	-	-	A	A	B	-	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	-	B	B	-
*RM7581	A	B	B	A	-	B	A	A	B	-	B	-	A	B	B	A	-	B	A	B	B	A	A	A	B	B	-	B	B	A	B	B	B	A	A	B		
*RM7600	A	B	A	A	B	B	A	A	B	B	A	B	B	A	A	A	B	A	A	A	A	B	A	-	A	A	A	A	A	B	A	A	A	B	B	A		
*RM252	A	A	A	-	-	B	-	A	B	B	B	A	B	B	B	B	A	B	B	A	A	-	B	B	A	-	B	A	B	B	A	-	-	B	A	B		
*RM6822	A	A	B	A	-	A	B	B	A	B	A	A	B	B	-	A	B	B	A	B	B	B	B	A	A	B	B	A	-	A	B	B	A	B	A	-		
*OSR19	A	B	B	B	-	B	B	B	-	B	A	B	A	-	A	B	A	B	B	B	A	B	B	B	B	A	A	A	A	-	B	B	B	A	A	B		
*RM422	B	A	A	B	B	A	B	-	A	A	A	B	-	B	B	A	A	B	B	B	B	B	B	B	A	A	B	A	B	B	A	-	A	A	B	A	B	
*RM7202	B	B	-	A	A	B	A	A	B	B	B	A	B	A	B	A	B	A	B	B	A	B	A	B	A	A	A	-	A	A	A	A	A	B	B	A		
*RM533	A	A	-	A	B	A	A	-	A	A	A	A	-	A	A	A	A	B	B	A	A	-	B	B	A	B	A	B	B	A	-	A	B	B	B	B		
*RM214	A	B	B	A	-	A	B	A	A	B	B	A	B	A	A	B	B	B	B	A	A	A	B	-	A	B	A	B	A	A	-	A	B	B	B	A		
*RM7555	A	A	B	B	-	B	B	B	A	A	A	B	B	B	A	B	A	A	A	B	A	A	B	B	B	A	B	A	A	B	A	A	A	B	A	A		
*OSR18	A	A	-	B	-	B	B	A	B	A	B	A	B	B	B	B	A	B	B	A	B	B	B	B	B	B	B	B	A	A	B	B	-	B	B	B		
*RM154	A	B	B	A	-	B	A	A	B	B	-	-	A	B	A	A	B	B	A	B	B	B	A	B	B	B	B	B	B	B	A	B	B	B	-	A	A	
*RM5919	A	A	-	-	B	A	B	B	A	B	A	B	A	B	A	-	B	B	A	-	B	A	-	B	B	B	B	A	B	B	B	A	B	B	-	B		
*RM7049	A	A	A	A	A	A	-	A	A	B	B	A	B	A	-	A	A	B	B	B	B	A	-	B	A	B	B	A	B	A	A	B	B	-	B	B		
*RM7364 A	A	B	B	A	A	-	-	-	A	A	A	A	A	A	B	A	B	A	B	A	A	-	B	B	B	B	A	B	A	B	A	A	A	-	A	B		
*RM7364 B	B	A	A	A	B	-	-	-	-	A	A	B	A	A	A	A	-	A	-	B	A	-	A	B	A	A	B	B	B	A	A	B	B	A	A	B		
*RM7501	B	A	A	B	A	A	B	B	A	-	B	B	A	B	A	B	A	B	A	A	B	B	B	B	B	A	A	-	B	B	B	B	A	B	A			
*RM7210	A	B	B	A	B	B	B	B	A	A	A	B	A	A	A	A	B	B	B	A	B	A	A	A	B	A	A	B	A	A	-	-	B	A	-	A		
*RM7208	A	A	A	B	B	A	A	A	B	B	B	A	B	B	A	B	A	-	A	B	B	B	B	B	A	B	B	A	B	B	B	A	A	B	A	B		
*RM7074	A	B	A	A	A	A	B	-	-	-	-	A	B	A	A	B	B	B	B	A	A	A	B	-	A	B	A	B	-	A	-	A	A	B	B	-		
*RM11	A	B	B	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	B	A	A	A	B	B	A	A	A	B	B	A	B	A	A	B	A	A	A	B	B	B			
*RM21	A	A	B	B	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	B	-	A	A	B	B	B	B	B	A	B	A	B	B	A	A	A	B			
*RM31	A	A	B	A	A	A	B	A	A	B	A	A	B	B	A	A	B	B	A	B	-	A	B	A	A	B	B	A	B	A	B	B	A	B	A	A		
*RM103	A	A	B	B	A	B	B	A	A	A	A	B	B	B	A	A	A	A	A	B	A	A	B	B	B	A	B	A	A	B	-	A	A	B	A	A		
*RM152	B	A	A	A	B	A	B	B	A	-	B	B	A	B	B	A	A	A	-	B	A	A	B	A	A	A	B	B	A	-	A	A	B	A	B	A		
*RM201	B	B	A	A	A	A	B	A	B	A	A	A	A	B	A	A	B	A	A	A	A	A	B	A	A	B	A	B	A	B	A	-	A	A	A	B		
*RM206	A	B	B	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	-	A	A	A	A	B	B	A	A	B	A	A	A	A	A	A	B		

*RM7391	A	B	A	A	A	A	B	A	A	-	A	B	A	A	A	B	A	B	A	B	A	B	B	B	A	B	B	A	A	A	B	A	A	A	B	B	
*RM7423	B	B	B	B	A	B	B	B	A	A	A	B	A	A	A	B	B	B	B	A	A	A	A	A	A	B	A	A	B	A	A	A	A	A	B	A	A
*RM7504	A	A	A	A	B	B	A	B	B	B	B	B	B	A	A	A	A	A	B	B	A	B	B	A	B	A	A	B	A	A	B	A	-	A	B	B	
*RM7511	A	A	A	B	B	A	B	B	A	A	A	A	-	A	B	A	A	A	B	B	B	A	A	A	A	B	A	B	B	B	-	A	-	A	-	A	
*OG10	B	B	A	A	B	B	B	B	-	B	B	B	B	A	A	A	B	B	A	B	B	A	A	A	B	B	B	B	B	B	-	A	B	B	A	A	
*OSR28	B	B	A	A	A	A	B	A	B	A	A	A	B	B	A	A	B	A	A	A	A	A	-	A	A	B	A	B	A	B	A	A	A	-	A	B	
*OSR14	A	A	B	B	B	B	A	A	B	B	B	B	B	B	A	A	B	B	A	B	B	A	A	B	B	B	B	B	B	A	B	B	B	B	A	A	
*OSR34	B	A	A	A	B	A	B	B	A	B	B	B	A	B	B	A	A	A	B	B	A	A	B	A	A	A	B	B	A	B	A	A	B	A	B	A	
*RM505	A	A	B	B	A	A	A	B	A	A	A	A	A	B	A	B	B	B	B	B	A	B	B	A	A	B	A	B	B	A	A	A	B	B	B	A	
*OSR22	A	B	B	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	B	A	A	A	B	B	-	A	B	B	-	A	B	A	B	B	A	A	A	B	B	B	B	
*RM336	A	B	B	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	B	A	A	A	B	B	-	A	B	B	A	A	B	A	B	B	-	A	A	B	B	B	B	
*RM473	A	A	A	B	B	A	A	B	A	A	A	B	B	A	B	A	B	B	B	A	A	B	B	A	A	A	B	B	A	-	A	A	B	B	A	B	
*RM7441	A	A	A	B	A	A	A	-	A	A	A	A	A	B	A	-	B	B	B	A	A	-	A	A	A	B	A	B	A	-	A	A	A	B	-	A	
*RM10	A	B	B	B	A	A	A	B	A	A	A	A	A	B	A	A	A	B	B	-	A	B	B	A	A	B	A	B	B	A	A	A	A	B	B	A	
*RM248	B	B	B	B	A	B	B	B	A	A	A	B	A	A	A	B	B	B	B	A	A	A	A	A	A	B	A	A	B	A	A	A	B	B	A	A	
*RM3555	B	B	B	B	A	B	B	B	A	A	B	B	A	A	A	B	B	B	B	B	A	A	A	A	A	B	A	A	-	A	A	A	B	B	B	A	
*RM182	A	B	B	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	B	A	A	A	B	B	A	A	B	B	A	A	B	A	A	B	A	A	A	A	B	B	B	
*RM7283	-	B	A	A	A	A	B	B	A	-	A	B	A	A	A	B	A	B	A	B	A	B	B	A	A	B	B	A	A	A	B	A	A	A	B	B	
*RM9	B	B	B	A	A	B	A	A	B	A	B	A	B	A	B	A	A	A	B	B	B	B	-	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A
*RM5414	A	A	A	B	A	A	A	B	-	B	B	B	B	A	A	B	A	A	A	B	A	B	B	A	B	A	A	B	B	A	B	A	-	B	B	B	
*OG66	A	B	A	A	-	A	A	B	A	A	B	B	A	A	B	A	B	B	B	A	A	B	B	B	A	A	B	B	B	B	A	-	B	B	A	A	
*RM7446	A	A	B	A	A	-	B	B	A	B	B	A	B	B	B	A	A	A	A	B	A	A	A	B	A	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	A
*OSR15	A	A	A	B	B	A	A	A	B	B	B	A	B	B	B	A	A	A	A	B	B	B	B	A	A	B	B	B	A	B	B	A	A	A	A	B	
*RM7652	A	B	B	A	A	B	A	A	B	B	B	-	A	B	A	A	A	B	A	B	B	A	A	A	B	B	B	B	B	A	B	B	B	A	A	A	
*RM38	B	B	A	A	B	A	B	B	A	B	B	B	A	B	B	A	A	A	B	B	B	B	-	A	A	A	B	B	A	B	A	A	B	A	B	A	
*RM300	A	B	A	A	B	A	B	A	B	A	A	A	B	A	B	A	A	B	A	B	B	A	-	A	A	B	B	B	-	A	B	A	A	B	A	A	
*OG7	A	A	B	B	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	B	A	-	B	B	-	-	B	-	B	A	B	B	A	A	A	A		
*RM209	A	A	B	B	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	B	A	B	A	B	A	A	B	B	B	B	B	A	B	A	-	B	-	A	B	A		
*RM411	B	B	A	B	B	-	B	B	A	A	B	B	B	A	B	-	A	B	B	A	-	B	B	A	A	A	B	B	B	A	A	A	B	B	A	B	

*RM7279	A	A	A	A	B	B	A	B	B	B	B	-	B	A	A	A	A	A	B	B	A	B	B	-	-	-	A	-	A	A	B	A	A	A	B	B		
*RM22	B	B	A	A	-	A	A	B	A	A	B	B	A	A	B	B	A	A	B	A	A	-	-	-	B	-	A	B	B	A	A	B	A	A				
*RM3412	A	B	-	A	-	-	A	A	B	A	B	A	B	A	B	A	A	B	B	A	B	B	B	A	B	B	B	B	A	A	A	A	B	A	A	B	A	B
*F4	A	B	B	B	A	B	B	B	-	B	A	B	A	-	A	B	A	B	B	A	A	B	B	B	B	A	A	A	A	A	B	B	B	A	A	B		
*G3	A	A	B	B	A	B	B	A	A	A	A	B	B	B	A	A	A	A	A	B	A	A	-	B	B	A	B	A	A	B	A	A	A	B	A	A		
*C4	A	A	B	A	A	A	B	-	-	B	B	A	B	B	B	A	A	B	A	B	A	A	-	B	-	-	B	B	B	B	A	B	B	B	-	A		
*OG81	B	B	A	A	B	A	B	A	B	-	A	A	B	-	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	B	B	B	B	B	B	B	A	B	A	-	B	
*RM220	B	-	B	A	B	A	A	B	A	A	B	A	A	A	A	-	A	A	B	B	A	-	B	A	-	-	A	-	B	A	-	B	A	A	B	A		
*RM437	A	A	A	A	B	B	-	B	B	B	B	B	B	A	A	A	A	A	B	B	A	B	B	A	-	A	A	B	A	A	B	A	A	A	B	B		
*RM484	A	A	A	B	A	A	A	A	B	A	B	B	A	A	B	B	A	B	B	A	B	A	A	A	A	A	A	A	B	-	A	A	A	B	B	B		
*RM500	A	B	B	B	A	A	B	A	A	B	B	A	A	A	A	B	B	B	B	A	A	A	B	B	A	B	A	B	A	A	-	A	B	B	-	B		
*RM7215	A	B	B	A	-	B	A	A	B	B	B	A	A	B	B	A	A	B	A	B	B	A	A	A	B	A	-	B	B	A	B	B	B	A	A	B		
*RM7389	B	A	B	B	A	A	B	B	B	A	B	-	-	-	B	A	A	B	B	B	B	B	B	B	B	B	A	B	B	B	A	B	A	A	B	-	B	
*RM1261	A	A	B	A	B	A	B	A	-	B	B	B	-	A	A	A	B	A	B	A	B	A	B	A	A	A	B	A	B	A	A	A	A	A	B	A	A	
*I3	A	B	A	A	B	-	B	A	B	A	A	A	B	A	A	A	A	B	A	B	B	A	B	A	A	B	A	B	A	A	B	A	B	B	B	A		
*L2	A	B	B	B	B	-	A	B	A	A	B	B	B	B	B	A	A	A	B	A	B	A	B	A	B	-	A	A	A	A	-	B	B	-	B	A		

data type ri self

160 158 0

	341	343	344	345	346	348	350	351	352	353	354	355	356	357	358	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	372	373	375	377	378	379	380	381	382	384	385	
*OG26	A	B	B	A	-	A	B	A	A	-	A	A	-	A	-	A	B	A	A	B	A	-	A	A	-	A	A	A	A	A	A	B	B	B	B	B	B
*OG32	A	B	A	-	B	B	B	B	A	A	B	B	B	A	-	B	A	B	B	B	B	B	B	A	A	-	B	B	A	A	A	-	B	-	B	A	
*OG43	B	B	B	B	B	A	B	A	A	A	A	A	A	-	A	-	-	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	B	B	A	B	A	
*OG74	B	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	B	-	A	B	B	A	A	A	B	A	A	A	A	B	-	A	B	A	B	B	A	A	A
*OG79	A	A	A	A	-	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	B	A	B	B	A	A	-	-	-	B	B	B	A	A	A	B	B	-	A	B	A	
*OSR30	B	B	B	A	A	B	B	A	B	A	B	B	B	-	-	-	A	A	B	B	-	-	B	B	B	B	A	B	B	B	A	A	A	A	A	B	
*RM1	B	A	B	A	A	A	-	B	A	B	B	B	A	A	-	A	B	B	B	B	A	A	B	B	A	A	B	B	A	A	A	B	B	A	A	B	
*RM5	B	A	B	-	A	A	-	A	A	A	A	A	A	A	-	-	A	B	B	A	B	A	A	B	-	A	A	B	B	A	B	A	B	A	B	A	B
*RM55	A	B	A	B	B	B	-	A	B	A	A	-	B	B	-	-	A	A	A	A	B	B	A	A	-	-	-	A	B	B	B	A	A	B	B	-	A

*RM144	A	B	B	A	A	B	-	A	A	B	A	-	-	B	-	B	B	A	A	A	A	A	-	A	-	B	B	A	B	B	B	A	A	B	A	A		
*RM184	A	A	A	A	B	B	B	B	A	A	B	A	A	A	-	B	-	B	B	B	A	A	B	A	A	B	-	A	A	A	A	B	A	B	A	B		
*RM204	A	A	B	A	-	B	A	A	A	-	A	A	B	B	-	B	B	-	A	A	B	A	A	B	A	A	A	A	B	B	B	B	A	-	A	B		
*RM217	A	A	B	A	A	A	-	A	A	B	A	A	-	B	-	-	A	-	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	B	B	A	B	A	B	A	B		
*RM224	B	A	B	B	B	-	B	A	A	B	A	B	B	B	-	B	-	A	A	A	A	A	A	A	A	B	-	A	B	B	B	A	A	B	A	A		
*RM225	A	A	B	A	-	B	A	A	A	B	A	-	B	B	-	B	B	-	A	A	B	A	A	B	A	A	A	A	-	B	B	B	A	B	A	B		
*RM235	A	B	B	B	A	-	B	B	B	B	B	B	B	B	B	A	B	-	B	A	A	B	B	B	A	B	B	B	A	A	B	B	B	A	-			
*RM242	B	A	A	B	A	A	B	B	A	A	A	A	-	A	-	B	A	A	B	B	B	A	A	A	A	A	A	A	B	B	A	A	B	A	B	B		
*RM246	-	B	A	-	-	A	A	-	A	A	A	-	A	A	-	B	-	A	B	A	A	A	A	A	B	-	B	B	A	B	A	B	-	-	A	B	A	
*RM254	A	-	B	B	-	A	-	B	A	A	B	A	A	A	-	-	A	A	A	A	A	A	A	A	-	A	-	-	-	A	B	A	B	A	A	B	A	
*RM270	A	B	B	B	B	B	-	B	A	B	B	B	B	B	-	-	A	B	A	B	A	B	B	B	B	A	B	B	B	A	A	B	B	B	A	-		
*RM307	B	B	-	B	A	A	B	B	A	B	A	B	B	B	-	A	A	A	B	A	A	B	B	B	A	B	B	A	-	A	B	A	B	A	B	A		
*RM335	B	B	A	B	-	A	B	B	A	B	A	B	B	A	-	A	A	A	A	B	B	B	B	B	B	-	A	B	-	B	B	B	B	A	B	A	A	
*RM338	A	B	B	A	-	A	B	B	A	A	B	-	B	A	-	A	A	-	B	A	-	A	B	A	B	A	B	A	-	A	B	A	A	A	A	A	A	
*RM341	A	B	A	B	A	B	A	B	B	A	A	B	B	A	-	A	B	B	A	A	A	B	B	A	A	A	B	B	A	A	A	A	A	A	B	B	B	
*RM345	A	A	B	A	A	A	-	B	A	A	B	B	-	B	-	-	A	A	B	A	A	A	B	B	-	A	A	B	A	A	B	A	B	B	A	A		
*RM348	B	A	B	A	-	-	B	A	B	A	B	B	A	B	-	B	A	B	B	A	A	B	-	B	-	B	A	A	A	B	B	B	A	B	A	A		
*RM349	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A	-	A	B	-	A	B	B	B	B	-	B	-	A	A	A	B	-	A	A	A	A	B	A	B	A		
*RM418	B	A	B	-	-	B	B	A	A	B	B	B	-	-	-	-	B	A	B	B	-	A	-	B	B	A	A	B	B	B	B	A	A	B	B	B		
*RM474	B	B	B	-	B	A	B	A	A	A	-	A	A	A	A	-	B	B	B	A	A	A	B	B	-	B	B	B	A	A	A	B	A	A	B	B		
*RM489	A	B	A	B	B	B	B	B	A	A	A	B	B	A	B	B	B	-	A	B	A	B	B	A	A	B	A	A	A	B	B	B	A	B	B			
*RM510	A	B	A	B	B	B	B	B	B	A	B	B	A	A	A	A	A	A	B	B	A	B	B	A	B	B	B	B	A	A	A	-	B	A	B	A		
*RM569	A	A	A	B	B	B	B	-	B	A	A	A	-	A	-	-	A	A	A	A	B	B	B	-	A	-	-	A	B	A	B	A	B	B	A	A		
*RM1075	-	-	-	A	B	A	A	A	B	A	B	B	B	A	-	-	-	-	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	B	A	A	A	-	A	A	
*RM1243	A	A	B	B	A	A	B	A	B	A	B	A	-	-	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	B	A	A	B	B	A	A	B	A	A	
*RM3153	B	B	A	A	A	B	B	A	A	A	A	A	B	A	-	-	A	A	-	B	A	B	A	A	-	-	-	-	A	A	B	B	B	B	B	B		
*RM3404	B	A	B	B	A	B	B	A	A	B	B	A	-	-	-	-	B	A	B	B	-	A	B	B	B	A	B	B	B	B	A	A	B	B	B			
*RM3428	B	B	A	A	-	-	B	B	A	A	A	A	A	A	-	B	-	A	B	B	A	B	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A
*RM3455	B	A	B	B	A	B	B	A	B	A	A	B	B	B	-	-	A	A	A	A	B	B	A	B	B	A	B	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	

*RM3740	B	A	B	A	-	A	A	B	A	B	B	B	-	A	A	A	B	A	B	B	A	-	-	A	A	A	B	-	A	A	A	B	B	A	A	B
*RM5359	B	A	B	B	-	A	A	B	A	B	B	B	A	A	B	A	A	B	B	A	A	-	-	B	A	A	B	B	A	A	A	B	B	A	A	A
*RM6314	B	-	B	-	A	A	B	B	A	B	B	B	B	B	-	-	-	B	B	B	-	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	A	A	B	A
*RM6925	A	A	A	B	-	-	A	-	A	B	A	A	A	B	-	A	B	B	A	A	A	A	-	A	-	A	B	A	A	A	B	B	B	B	B	A
*RM7033	B	A	A	A	B	-	A	A	B	-	B	B	-	-	-	-	A	B	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A	B	A	A	-	A	-
*RM7080	B	B	A	B	A	B	B	B	A	-	A	A	B	A	-	-	A	-	A	B	A	A	A	-	A	A	B	B	A	A	B	B	B	B	A	-
*RM7161	A	-	B	B	A	A	B	A	B	A	A	-	B	B	-	-	-	A	B	B	A	B	B	B	B	B	-	A	B	B	B	A	A	A	B	B
*RM7205	A	B	A	B	A	B	A	A	B	A	A	B	A	A	A	-	-	A	-	A	B	B	B	A	A	B	A	A	B	A	A	A	A	B	B	B
*RM7213	A	A	B	A	-	A	A	A	A	A	A	B	B	B	-	A	A	-	B	B	A	A	A	A	A	A	B	A	-	B	A	A	A	B	B	B
*RM7275	B	A	A	A	A	A	B	B	A	B	A	A	A	A	-	B	A	A	B	A	A	B	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
*RM7285	B	B	A	A	-	B	B	-	B	A	A	A	B	A	-	B	A	B	-	B	A	B	A	A	A	A	B	A	A	A	B	B	B	B	B	B
*RM7286	A	B	A	B	-	B	A	A	B	B	B	B	A	A	-	-	B	A	A	B	A	A	-	B	B	A	A	A	B	A	A	-	-	B	A	B
*RM7300	B	B	B	A	B	A	B	A	A	A	B	B	B	A	B	B	B	A	B	B	A	A	A	A	A	A	B	A	A	-	B	B	B	A	B	
*RM7306	B	A	A	B	A	A	B	B	A	A	B	A	B	A	-	A	A	A	B	B	A	A	A	A	A	B	A	B	B	A	A	A	B	B	B	
*RM7338	A	A	-	B	A	-	B	A	A	A	A	B	-	-	-	A	B	A	B	A	A	B	-	-	B	A	A	A	B	B	B	A	A	B	B	B
*RM7390	B	A	A	B	-	A	B	B	B	A	A	A	A	B	-	A	B	A	B	-	A	B	B	B	-	-	B	A	A	B	A	B	B	B	A	A
*RM7463	B	B	A	A	A	A	B	B	A	B	A	A	A	A	-	-	A	A	B	B	A	B	-	B	A	A	A	-	A	A	A	A	A	B	A	A
*RM7492	B	B	B	-	B	A	-	A	A	A	A	A	A	A	-	A	B	B	B	A	A	A	B	B	A	B	B	A	A	A	A	B	A	A	B	B
*RM7580	B	B	A	A	A	B	A	A	-	-	A	A	A	B	-	-	A	A	-	B	A	B	A	A	B	-	B	A	-	A	B	B	B	B	A	A
*RM7581	A	A	A	A	B	A	A	A	B	A	B	B	B	A	-	-	-	B	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	B	A	A	A	-	A	A	
*RM7600	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	B	A	B	-	A	B	B	B	A	B	A	A	A	B	A	A	-	B	A	A	A	B	A	
*RM252	-	A	A	A	B	-	B	A	B	-	A	B	A	A	-	-	A	A	B	A	B	B	B	B	B	B	A	A	A	B	B	B	A	B	A	A
*RM6822	A	B	A	A	B	-	A	A	B	A	A	B	B	-	A	B	B	B	A	A	A	A	A	B	-	A	A	B	B	-	-	A	B	A	B	A
*OSR19	B	A	B	A	A	A	A	A	A	B	A	A	B	-	-	A	B	B	B	-	-	A	-	B	B	B	-	A	B	B	B	B	A	B	A	A
*RM422	A	B	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	B	B	A	B	B	A	A	A	-	-	A	A	A	A	B	A	A	A
*RM7202	B	A	A	A	A	B	B	A	A	A	A	B	A	A	A	B	A	B	B	A	A	A	A	B	A	B	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A
*RM533	A	A	B	B	B	B	B	A	A	B	B	B	-	-	B	A	B	A	B	A	-	A	B	B	B	A	-	B	B	B	B	A	A	B	B	B
*RM214	A	A	A	B	A	A	B	A	A	A	A	B	B	B	-	-	B	A	B	B	A	B	B	B	B	B	A	A	B	B	B	A	A	B	B	B
*RM7555	A	A	B	B	A	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	A	A	B	A	A	A	B	B	B	A	A	B	A	A	B	A	B	B	A	A

*OSR18	B	A	A	B	A	B	B	B	B	B	A	A	B	B	-	B	B	A	-	B	B	B	B	B	B	A	B	-	A	B	A	B	B	B	A	A	
*RM154	B	A	A	A	B	A	A	A	B	B	B	B	-	-	B	B	A	B	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	B	A	A
*RM5919	A	B	A	B	B	A	A	B	B	B	B	B	B	-	A	B	A	A	B	B	B	B	A	-	B	-	-	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
*RM7049	B	B	A	A	A	B	-	A	-	-	A	A	A	B	-	B	-	A	A	B	A	B	A	A	B	A	-	-	A	A	B	B	B	B	A	A	
*RM7364 A	A	A	A	A	A	A	B	A	B	A	A	A	A	-	B	A	B	B	A	A	B	A	B	A	A	-	B	A	A	A	A	A	A	-	A	A	A
*RM7364 B	A	A	B	B	A	B	B	B	A	A	A	A	B	A	A	B	A	B	-	A	B	B	B	A	-	-	A	A	B	A	B	B	B	A	A	-	
*RM7501	B	B	B	B	B	B	B	A	A	A	A	A	A	B	-	B	A	A	B	B	-	A	A	B	A	A	A	A	B	B	B	B	A	B	A	A	
*RM7210	A	B	-	B	-	B	A	B	A	B	-	A	B	B	-	A	A	A	B	B	A	A	A	A	A	A	B	-	B	A	A	A	B	A	B	B	
*RM7208	B	A	B	A	-	A	B	A	B	A	A	B	A	B	-	B	A	B	A	A	B	B	B	B	A	B	A	A	A	B	B	B	A	B	A	A	
*RM7074	A	A	A	B	A	B	B	A	A	A	A	B	B	B	B	-	B	A	B	B	A	B	B	B	-	-	-	A	B	B	B	A	A	B	B	B	
*RM11	B	A	B	B	B	-	B	A	A	B	B	B	A	-	B	A	B	A	B	B	B	A	B	B	B	A	B	B	B	B	B	A	A	B	B	B	
*RM21	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	-	B	-	-	B	B	-	B	B	-	B	B	B	B	-	B	A	A	B	-	B	A	-	A	-	-	
*RM31	A	B	B	A	B	B	A	B	B	B	A	A	B	B	A	B	A	B	A	A	A	A	A	B	-	A	A	B	B	A	A	A	B	B	A	A	
*RM103	A	A	B	A	A	A	B	B	A	A	B	B	B	B	-	B	A	A	B	A	A	A	B	B	B	A	A	B	A	A	B	-	B	B	A	A	
*RM152	A	A	A	B	B	A	A	B	A	B	A	A	A	B	-	A	B	B	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A	B	B	B	B	B	A	
*RM201	A	A	A	B	A	A	B	B	A	A	A	A	B	A	B	B	A	A	B	B	B	A	A	A	A	B	A	B	B	A	A	A	A	A	B	B	
*RM206	B	A	B	A	A	B	B	A	A	B	B	-	A	B	-	A	A	B	A	A	A	A	B	A	A	B	B	B	B	A	A	A	A	A	A	A	
*RM207	B	B	A	B	B	B	B	A	B	B	B	B	A	A	-	B	B	A	A	B	B	A	B	B	B	A	A	A	B	A	A	A	B	B	A	A	
*RM210	B	B	A	A	B	B	B	-	B	B	B	A	B	B	A	B	A	A	B	B	A	A	B	A	A	A	B	B	A	-	B	A	B	-	B	A	
*RM222	B	B	B	A	B	A	B	A	A	A	A	A	A	A	-	A	B	B	B	-	A	A	B	B	-	B	B	B	A	A	A	B	A	A	B	B	
*RM229	-	A	A	A	A	B	A	B	A	B	B	A	B	A	-	B	A	B	B	A	A	B	A	B	-	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	
*RM231	B	A	A	B	B	B	B	B	B	A	A	A	-	A	B	B	A	B	A	A	B	B	B	-	A	A	B	A	A	A	B	B	B	B	B	A	
*RM234	B	B	A	B	A	A	A	B	B	B	A	A	B	B	A	B	B	B	B	B	B	A	A	B	B	A	B	B	B	B	A	B	B	A	B	B	
*RM283	-	A	B	A	A	-	A	B	A	B	B	B	B	A	A	A	B	B	B	B	A	A	B	B	A	A	B	B	A	A	A	B	B	A	A	B	
*RM284	B	B	A	B	A	-	A	A	A	A	B	A	B	A	B	A	A	A	B	A	B	A	A	A	A	B	A	A	A	A	B	B	B	B	A	A	
*RM315	A	B	A	B	B	A	A	A	A	A	B	A	A	-	A	A	B	A	B	A	A	A	B	-	B	B	A	A	B	A	A	A	A	B	A		
*RM316	B	B	B	B	B	A	B	B	B	A	A	A	A	A	-	B	B	B	B	A	A	B	A	B	A	B	B	A	B	B	-	A	-	B	B	A	
*RM408	A	A	A	B	B	A	A	B	A	B	A	A	A	B	A	A	B	B	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	B	A	B	B	B	A	
*RM420	B	B	-	A	A	B	A	B	B	A	A	B	B	A	A	B	B	B	A	B	-	A	A	B	B	A	B	B	B	B	A	A	B	A	A	A	

*RM431	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	B	A	A	B	B	B	A	A	A	B	A	A	B	B	A	B	B	A	A	A	B	A		
*RM481	A	A	B	B	A	A	B	A	B	-	B	A	B	A	-	B	A	B	A	A	A	A	A	A	B	B	A	A	B	B	A	A	B	A	A		
*RM445	A	A	B	B	B	B	B	-	A	B	A	A	-	A	-	B	A	A	-	B	A	B	-	-	-	-	-	-	A	A	-	A	A	-	-	-	
*RM560	B	A	B	B	B	B	B	A	A	B	B	A	A	A	A	B	A	B	B	A	A	B	B	B	A	B	B	B	B	B	-	-	B	B	B		
*RM574	B	B	A	A	A	-	A	-	B	B	B	A	A	A	A	A	B	B	B	B	A	B	B	B	B	A	B	B	B	A	B	B	A	B	B	A	
*RM1164	A	B	A	A	B	A	B	B	A	A	A	B	B	A	A	A	A	B	B	A	-	A	B	B	B	A	B	A	B	A	B	B	A	B	A	A	
*RM1937	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A	B	B	A	A	B	A	B	-	B	A	A	A	A	-	A	A	A	A	A	A	A	B	A	B	A	-
*RM3370	A	A	B	A	A	A	A	A	A	B	A	B	A	B	B	A	A	A	A	A	B	A	B	A	A	A	A	B	B	A	B	A	B	B	B	B	
*RM3461	A	A	A	A	B	A	A	B	A	A	B	-	A	A	A	B	A	B	B	A	A	A	B	A	B	A	B	A	A	A	B	A	B	-	B	B	
*RM5349	B	A	A	A	A	A	A	A	A	B	B	A	B	B	-	B	A	B	B	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	
*RM5638	B	A	B	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	-	A	B	A	A	B	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	B	B	A	B	A	A	B	A
*RM7076	A	B	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	B	B	A	B	B	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A
*RM7110	A	A	B	B	A	B	B	A	A	A	A	B	A	B	B	A	B	A	B	A	A	B	B	B	B	A	A	A	B	B	B	A	A	B	B	B	
*RM7124	B	A	B	A	A	B	B	-	A	A	A	A	A	A	B	B	A	-	B	A	B	A	A	B	A	B	A	B	B	A	B	A	B	A	B	A	
*RM7200	B	B	A	B	B	A	B	B	A	B	A	B	B	A	-	A	A	A	B	A	B	B	B	B	-	B	B	B	A	B	B	A	-	B	A	A	
*RM7226	B	B	A	A	A	A	B	B	A	A	A	A	A	A	-	B	A	A	B	B	A	B	A	B	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A
*RM7269	A	B	B	A	B	B	A	A	A	B	B	B	B	A	B	B	A	B	B	A	B	A	B	A	A	B	A	B	B	A	B	A	A	A	B	B	
*RM7391	B	B	A	A	A	A	B	B	A	B	A	A	A	A	A	B	A	A	B	B	A	B	A	B	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A
*RM7423	B	B	B	A	A	B	A	B	B	B	B	B	B	-	A	B	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	B	B	A	A	B	B	A	A	
*RM7504	B	B	B	B	-	-	B	B	A	B	A	B	B	B	B	A	A	A	B	A	A	B	B	B	A	B	B	A	-	A	B	A	-	A	B	A	
*RM7511	A	B	A	B	B	B	A	A	B	A	A	B	A	-	A	A	A	A	-	A	A	B	B	A	A	B	A	A	B	A	A	A	A	B	A	B	
*OG10	B	-	B	B	B	A	B	B	B	A	A	A	A	A	A	B	B	B	B	A	A	B	A	B	A	B	B	A	B	B	A	A	A	B	B	A	
*OSR28	B	A	A	B	A	A	B	B	A	A	A	A	-	A	-	B	A	A	B	B	-	A	A	A	A	A	B	B	B	B	A	A	-	A	B	B	
*OSR14	B	A	A	A	B	A	A	A	B	B	B	B	B	B	B	B	A	B	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	B	A	A
*OSR34	A	A	A	B	B	A	A	B	B	B	A	A	A	B	-	A	B	B	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	B	B	B	B	B	B	A	
*RM505	B	B	A	B	A	A	A	B	B	B	A	A	-	-	A	A	A	B	B	B	B	A	B	B	B	A	B	B	B	B	A	B	B	B	B	B	
*OSR22	B	A	B	B	A	B	B	A	A	B	-	A	A	-	-	-	B	A	-	B	A	A	B	B	B	A	B	B	B	B	B	A	A	B	B	B	
*RM336	B	A	B	B	A	B	B	B	A	B	B	A	-	-	A	A	A	A	B	B	B	A	B	B	B	A	B	B	B	B	A	A	A	B	B	B	
*RM473	A	B	A	A	B	A	B	B	A	A	A	B	B	A	A	A	A	B	B	A	-	A	B	-	B	A	B	A	B	B	A	A	A	A	A	A	

*RM7441	-	B	A	A	A	A	A	-	B	B	A	A	B	A	A	A	B	B	B	B	A	A	A	B	B	A	B	B	B	B	A	B	-	A	B	-
*RM10	B	A	B	B	A	B	A	B	A	B	B	A	A	A	A	A	A	-	B	B	A	B	B	B	A	B	B	B	B	A	A	A	B	B	B	
*RM248	B	B	B	A	A	B	A	B	B	A	A	A	B	A	A	B	B	B	A	B	B	A	A	B	B	A	B	B	B	B	A	A	B	A	B	A
*RM3555	B	B	B	A	-	B	A	B	A	A	A	A	B	A	A	B	B	B	A	B	A	A	A	B	B	A	B	B	B	B	A	B	A	B	A	
*RM182	B	A	A	-	A	A	B	A	A	B	-	-	A	A	A	A	A	A	B	A	A	B	B	B	A	B	A	B	B	B	A	-	B	B	-	
*RM7283	A	B	-	A	A	A	B	B	A	B	A	A	A	A	A	B	A	A	B	B	A	B	A	B	A	A	A	A	B	A	A	A	A	B	A	A
*RM9	B	A	B	-	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	B	A	B	B	A	A	A	A	B	A	A	A	B	B	A	B	A	A	A	B	A	
*RM5414	B	B	A	B	B	A	B	B	A	B	A	B	B	A	A	A	A	B	B	B	B	B	B	A	B	B	-	A	B	B	B	-	B	A	A	
*OG66	A	A	-	A	-	A	B	B	A	A	A	B	B	A	-	B	A	A	A	A	B	A	B	B	A	-	B	A	A	A	B	-	B	-	B	B
*RM7446	B	B	A	B	-	B	B	B	B	A	A	A	B	B	B	B	A	B	B	B	A	B	A	A	B	-	B	A	A	A	B	B	B	B	B	
*OSR15	B	A	A	A	A	A	B	A	B	A	-	B	A	B	A	B	A	B	B	A	A	A	B	B	A	B	A	A	A	B	B	B	A	B	A	A
*RM7652	B	-	A	A	B	A	A	A	B	B	B	B	B	A	B	-	A	-	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	-	A	A	
*RM38	A	B	A	B	A	A	B	B	-	-	A	A	A	B	A	A	B	B	A	B	-	A	-	-	-	A	B	A	B	A	B	B	-	B	B	A
*RM300	A	B	A	A	A	A	A	B	-	-	A	B	B	A	B	B	-	B	A	A	-	B	-	-	-	B	B	B	A	A	A	A	B	B	B	
*OG7	A	A	A	A	A	B	A	B	A	B	B	A	-	B	-	B	A	B	B	B	B	-	A	B	-	B	B	-	A	A	A	A	A	A	B	
*RM209	B	A	A	A	A	B	A	B	A	B	B	A	-	A	-	B	A	B	B	A	A	B	A	B	-	A	A	-	-	A	A	A	A	B	A	B
*RM411	A	A	A	A	A	B	B	B	B	A	A	B	B	-	-	B	A	B	B	A	A	-	B	B	A	A	B	A	B	A	A	A	A	A	A	
*RM7279	B	B	B	B	A	A	B	B	A	B	A	B	-	-	-	-	A	A	-	-	A	B	B	B	-	A	-	A	-	A	B	A	B	A	B	
*RM22	A	A	A	B	B	B	B	B	B	A	A	A	-	-	-	B	A	-	-	-	-	B	-	-	-	-	-	A	-	A	B	A	B	B	A	
*RM3412	B	B	B	B	B	A	B	A	A	A	A	B	A	-	A	B	A	A	B	A	-	-	B	B	-	A	-	A	A	B	A	B	B	A	A	A
*F4	B	A	B	A	A	A	A	A	A	B	A	A	B	-	-	A	B	B	A	A	B	A	A	B	B	B	A	A	B	B	B	B	A	B	A	B
*G3	A	A	B	A	A	A	B	B	A	A	B	B	B	B	-	B	A	A	B	A	A	A	B	B	B	A	A	B	A	A	B	A	B	B	A	A
*C4	B	B	A	-	A	B	B	B	B	A	A	A	B	-	B	B	A	B	B	B	A	B	A	A	A	B	A	A	A	B	B	B	B	B	B	
*OG81	B	A	A	B	A	A	B	A	A	A	A	A	B	A	B	B	A	B	A	B	A	A	B	A	A	A	B	-	A	B	A	A	B	A	A	B
*RM220	B	A	B	A	A	A	A	B	A	B	B	B	A	A	A	A	B	-	-	B	A	-	B	B	A	A	-	-	A	A	A	B	B	A	A	A
*RM437	-	B	B	B	A	A	B	B	A	B	A	B	B	B	B	A	A	A	B	A	A	B	B	B	A	B	B	A	-	A	B	A	B	A	B	A
*RM484	A	B	-	A	B	A	-	-	A	A	B	-	B	A	A	-	B	A	B	B	A	B	A	A	-	A	A	A	A	B	B	-	B	B	B	
*RM500	A	A	B	B	A	B	B	A	A	A	A	B	A	B	B	A	B	A	B	A	A	B	B	B	B	A	A	-	B	B	B	A	A	B	B	B
*RM7215	A	A	A	A	A	A	-	A	B	A	B	A	B	A	-	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A

*RM7389	B	A	A	B	A	B	B	A	A	B	A	B	-	B	B	A	A	B	B	B	B	B	-	A	A	-	B	-	A	A	A	A	A	A	B	A	
*RM1261	A	B	B	B	A	B	-	A	B	A	A	B	B	B	-	B	A	B	-	A	B	B	A	B	B	A	B	B	A	A	A	B	A	A	B	A	A
*I3	A	B	A	B	A	B	A	B	B	A	A	B	B	A	B	A	B	B	-	A	A	B	B	A	A	A	B	B	A	A	A	B	A	B	B	B	B
*L2	A	A	B	A	A	A	A	A	A	B	A	B	A	B	-	A	A	A	A	A	B	A	B	A	A	A	A	-	B	B	A	B	A	B	B	B	

data type ri self

160 158 0

	341	343	344	345	346	348	350	351	352	353	354	355	356	357	358	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	372	373	375	377	378	379	380	381	382	384	385	
*OG26	A	B	B	A	-	A	B	A	A	-	A	A	-	A	-	A	B	A	A	B	A	-	A	A	-	A	A	A	A	A	B	B	B	B	B	B	B
*OG32	A	B	A	-	B	B	B	B	A	A	B	B	B	A	-	B	A	B	B	B	B	B	B	A	A	-	B	B	A	A	A	-	B	-	B	A	
*OG43	B	B	B	B	B	A	B	A	A	A	A	A	A	-	A	-	-	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	B	B	A	B	A	
*OG74	B	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	B	-	A	B	B	A	A	A	B	A	A	A	B	-	A	B	A	B	B	A	A	A	
*OG79	A	A	A	A	-	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	B	A	B	B	A	A	-	-	-	B	B	B	A	A	A	B	B	-	A	B	A	
*OSR30	B	B	B	A	A	B	B	A	B	A	B	B	B	-	-	-	A	A	B	B	-	-	B	B	B	B	A	B	B	B	A	A	A	A	A	B	
*RM1	B	A	B	A	A	A	-	B	A	B	B	B	A	A	-	A	B	B	B	B	A	A	B	B	A	A	B	B	A	A	A	B	B	A	A	B	
*RM5	B	A	B	-	A	A	-	A	A	A	A	A	A	A	-	-	A	B	B	A	B	A	A	B	-	A	A	B	B	A	B	A	B	A	B	A	
*RM55	A	B	A	B	B	B	-	A	B	A	A	-	B	B	-	-	A	A	A	A	B	B	A	A	-	-	-	A	B	B	B	A	A	B	B	-	
*RM144	A	B	B	A	A	B	-	A	A	B	A	-	-	B	-	B	B	A	A	A	A	A	-	A	-	B	B	A	B	B	B	A	A	B	A	A	
*RM184	A	A	A	A	B	B	B	B	A	A	B	A	A	A	-	B	-	B	B	B	A	A	B	A	A	B	-	A	A	A	A	B	A	B	A	B	
*RM204	A	A	B	A	-	B	A	A	A	-	A	A	B	B	-	B	B	-	A	A	B	A	A	B	A	A	A	A	B	B	B	B	A	-	A	B	
*RM217	A	A	B	A	A	A	-	A	A	B	A	A	-	B	-	-	A	-	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	B	B	A	B	A	B	A	
*RM224	B	A	B	B	B	-	B	A	A	B	A	B	B	B	-	B	-	A	A	A	A	A	A	A	A	B	-	A	B	B	B	A	A	B	A	A	
*RM225	A	A	B	A	-	B	A	A	A	B	A	-	B	B	-	B	B	-	A	A	B	A	A	B	A	A	A	-	B	B	B	A	B	A	B		
*RM235	A	B	B	B	A	-	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	A	B	-	B	A	A	B	B	B	A	B	B	B	A	A	B	B	B	A	-	
*RM242	B	A	A	B	A	A	B	B	A	A	A	A	-	A	-	B	A	A	B	B	B	A	A	A	A	A	A	A	A	B	B	A	A	B	A	B	
*RM246	-	B	A	-	-	A	A	-	A	A	A	-	A	A	-	B	-	A	B	A	A	A	A	B	-	B	B	A	B	A	B	-	-	A	B	A	
*RM254	A	-	B	B	-	A	-	B	A	A	B	A	A	A	-	-	A	A	A	A	A	A	A	-	A	-	-	-	A	B	A	B	A	A	B	A	
*RM270	A	B	B	B	B	B	-	B	A	B	B	B	B	B	-	-	A	B	A	B	A	B	B	B	B	B	A	B	B	B	A	A	B	B	B	A	
*RM307	B	B	-	B	A	A	B	B	A	B	A	B	B	B	-	A	A	A	B	A	A	B	B	B	A	B	B	A	-	A	B	A	B	A	B	A	

*RM335	B	B	A	B	-	A	B	B	A	B	A	B	B	A	-	A	A	A	A	B	B	B	B	B	-	A	B	-	B	B	B	B	A	B	A	A		
*RM338	A	B	B	A	-	A	B	B	A	A	B	-	B	A	-	A	A	-	B	A	-	A	B	A	B	A	B	A	-	A	B	A	A	A	A	A		
*RM341	A	B	A	B	A	B	A	B	B	A	A	B	B	A	-	A	B	B	A	A	A	B	B	A	A	A	B	B	A	A	A	A	A	A	B	B	B	
*RM345	A	A	B	A	A	A	-	B	A	A	B	B	-	B	-	-	A	A	B	A	A	A	B	B	-	A	A	B	A	A	B	A	B	B	A	A		
*RM348	B	A	B	A	-	-	B	A	B	A	B	B	A	B	-	B	A	B	B	A	A	B	-	B	-	B	A	A	A	B	B	B	A	B	A	A		
*RM349	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A	-	A	B	-	A	B	B	B	B	-	B	-	A	A	A	B	-	A	A	A	A	B	A	B	A		
*RM418	B	A	B	-	-	B	B	A	A	B	B	B	-	-	-	-	B	A	B	B	-	A	-	B	B	A	A	B	B	B	B	A	A	B	B	B		
*RM474	B	B	B	-	B	A	B	A	A	A	-	A	A	A	A	-	B	B	B	A	A	A	B	B	-	B	B	B	A	A	A	B	A	A	B	B		
*RM489	A	B	A	B	B	B	B	B	A	A	A	B	B	A	B	B	B	B	-	A	B	A	B	B	A	A	B	A	A	A	B	B	B	A	B	B		
*RM510	A	B	A	B	B	B	B	B	B	A	B	B	A	A	A	A	A	A	B	B	A	B	B	A	B	B	B	B	A	A	A	-	B	A	B	A		
*RM569	A	A	A	B	B	B	B	-	B	A	A	A	-	A	-	-	A	A	A	A	B	B	B	-	A	-	-	A	B	A	B	A	B	B	A	A		
*RM1075	-	-	-	A	B	A	A	A	B	A	B	B	B	A	-	-	-	-	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	B	A	A	A	-	A	A		
*RM1243	A	A	B	B	A	A	B	A	B	A	B	A	B	A	-	-	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	B	A	A	B	B	A	A	B	A	A	
*RM3153	B	B	A	A	A	B	B	A	A	A	A	A	B	A	-	-	A	A	-	B	A	B	A	A	-	-	-	-	A	A	B	B	B	B	B	B		
*RM3404	B	A	B	B	A	B	B	A	A	B	B	A	-	-	-	-	B	A	B	B	-	A	B	B	B	A	B	B	B	B	B	A	A	B	B	B		
*RM3428	B	B	A	A	-	-	B	B	A	A	A	A	A	A	-	B	-	A	B	B	A	B	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A
*RM3455	B	A	B	B	A	B	B	A	B	A	A	B	B	B	-	-	A	A	A	A	B	B	A	B	B	A	B	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	
*RM3740	B	A	B	A	-	A	A	B	A	B	B	B	-	A	A	A	B	A	B	B	A	-	-	A	A	A	B	-	A	A	A	B	B	A	A	B		
*RM5359	B	A	B	B	-	A	A	B	A	B	B	B	A	A	B	A	A	B	B	A	A	-	-	B	A	A	B	B	A	A	A	B	B	A	A	A		
*RM6314	B	-	B	-	A	A	B	B	A	B	B	B	B	B	-	-	-	B	B	B	-	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	A	A	B	A	
*RM6925	A	A	A	B	-	-	A	-	A	B	A	A	A	B	-	A	B	B	A	A	A	A	-	A	-	A	B	A	A	A	B	B	B	B	B	B	A	
*RM7033	B	A	A	A	B	-	A	A	B	-	B	B	-	-	-	-	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A	B	A	A	-	A	-	
*RM7080	B	B	A	B	A	B	B	B	A	-	A	A	B	A	-	-	A	-	A	B	A	A	A	-	A	A	B	B	A	A	B	B	B	B	A	-		
*RM7161	A	-	B	B	A	A	B	A	B	A	A	-	B	B	-	-	-	A	B	B	A	B	B	B	B	B	-	A	B	B	B	A	A	A	B	B		
*RM7205	A	B	A	B	A	B	A	A	B	A	A	B	A	A	A	-	-	A	-	A	B	B	B	A	A	B	A	A	B	A	A	A	A	A	B	B	B	
*RM7213	A	A	B	A	-	A	A	A	A	A	A	B	B	B	-	A	A	-	B	B	A	A	A	A	A	A	B	A	-	B	A	A	A	B	B	B		
*RM7275	B	A	A	A	A	A	B	B	A	B	A	A	A	A	-	B	A	A	B	A	A	B	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	
*RM7285	B	B	A	A	-	B	B	-	B	A	A	A	B	A	-	B	A	B	-	B	A	B	A	A	A	A	B	A	A	A	B	B	B	B	B	B		
*RM7286	A	B	A	B	-	B	A	A	B	B	B	B	A	A	-	-	B	A	A	B	A	A	-	B	B	A	A	A	B	A	A	-	-	B	A	B		

*RM7300	B	B	B	A	B	A	B	A	A	A	B	B	B	A	B	B	A	B	B	A	A	A	A	A	A	B	A	A	-	B	B	B	A	B		
*RM7306	B	A	A	B	A	A	B	B	A	A	B	A	B	A	-	A	A	A	B	B	A	A	A	A	A	B	A	B	B	A	A	A	B	B	B	
*RM7338	A	A	-	B	A	-	B	A	A	A	A	B	-	-	-	A	B	A	B	A	A	B	-	-	B	A	A	A	B	B	B	A	A	B	B	B
*RM7390	B	A	A	B	-	A	B	B	B	A	A	A	A	B	-	A	B	A	B	-	A	B	B	B	-	-	B	A	A	B	A	B	B	B	A	A
*RM7463	B	B	A	A	A	A	B	B	A	B	A	A	A	A	-	-	A	A	B	B	A	B	-	B	A	A	A	-	A	A	A	A	A	B	A	A
*RM7492	B	B	B	-	B	A	-	A	A	A	A	A	A	A	-	A	B	B	B	A	A	A	B	B	A	B	B	A	A	A	A	B	A	A	B	B
*RM7580	B	B	A	A	A	B	A	A	-	-	A	A	A	B	-	-	A	A	-	B	A	B	A	A	B	-	B	A	-	A	B	B	B	B	A	A
*RM7581	A	A	A	A	B	A	A	A	B	A	B	B	B	A	-	-	-	B	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	B	A	A	A	-	A	A	
*RM7600	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	B	A	B	-	A	B	B	B	A	B	A	A	A	B	A	A	-	B	A	A	A	B	A	
*RM252	-	A	A	A	B	-	B	A	B	-	A	B	A	A	-	-	A	A	B	A	B	B	B	B	B	A	A	A	B	B	B	A	B	A	A	
*RM6822	A	B	A	A	B	-	A	A	B	A	A	B	B	-	A	B	B	B	A	A	A	A	A	B	-	A	A	B	B	-	-	A	B	A	B	A
*OSR19	B	A	B	A	A	A	A	A	A	B	A	A	B	-	-	A	B	B	B	-	-	A	-	B	B	B	-	A	B	B	B	B	A	B	A	A
*RM422	A	B	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	B	B	A	B	B	A	A	A	-	-	A	A	A	A	B	A	A	A	
*RM7202	B	A	A	A	A	B	B	A	A	A	A	B	A	A	A	B	A	B	B	A	A	A	A	B	A	B	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A
*RM533	A	A	B	B	B	B	B	A	A	B	B	B	-	-	B	A	B	A	B	A	-	A	B	B	B	A	-	B	B	B	B	A	A	B	B	B
*RM214	A	A	A	B	A	A	B	A	A	A	A	B	B	B	-	-	B	A	B	B	A	B	B	B	B	A	A	B	B	B	A	A	B	B	B	
*RM7555	A	A	B	B	A	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	A	A	B	A	A	A	B	B	B	A	A	B	A	A	B	A	B	B	A	A	
*OSR18	B	A	A	B	A	B	B	B	B	B	A	A	B	B	-	B	B	A	-	B	B	B	B	B	A	B	-	A	B	A	B	B	B	A	A	
*RM154	B	A	A	A	B	A	A	A	B	B	B	B	-	-	B	B	A	B	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	B	A	A
*RM5919	A	B	A	B	B	A	A	B	B	B	B	B	B	B	-	A	B	A	A	B	B	B	B	A	-	B	-	-	A	B	A	B	A	B	A	B
*RM7049	B	B	A	A	A	B	-	A	-	-	A	A	A	B	-	B	-	A	A	B	A	B	A	A	B	A	-	-	A	A	B	B	B	B	A	A
*RM7364	A	A	A	A	A	A	B	A	B	A	A	A	A	-	B	A	B	B	A	A	B	A	B	A	A	-	B	A	A	A	A	A	-	A	A	A
*RM7364	A	A	B	B	A	B	B	B	A	A	A	A	B	A	A	B	A	B	-	A	B	B	B	A	-	-	A	A	B	A	B	B	B	A	A	-
*RM7501	B	B	B	B	B	B	B	A	A	A	A	A	A	B	-	B	A	A	B	B	-	A	A	B	A	A	A	B	B	B	B	A	B	A	A	
*RM7210	A	B	-	B	-	B	A	B	A	B	-	A	B	B	-	A	A	A	B	B	A	A	A	A	A	B	-	B	A	A	A	B	A	B	B	
*RM7208	B	A	B	A	-	A	B	A	B	A	A	B	A	B	-	B	A	B	A	A	B	B	B	B	A	B	A	A	A	B	B	B	A	B	A	A
*RM7074	A	A	A	B	A	B	B	A	A	A	A	B	B	B	B	-	B	A	B	B	A	B	B	B	-	-	-	A	B	B	B	A	A	B	B	B
*RM11	B	A	B	B	B	-	B	A	A	B	B	B	A	-	B	A	B	A	B	B	B	A	B	B	B	A	B	B	B	B	A	A	B	B	B	
*RM21	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	-	B	-	-	B	B	-	B	B	-	B	B	B	-	B	A	A	B	-	B	A	-	A	-	-	

*RM31	A	B	B	A	B	B	A	B	B	B	A	A	B	B	A	B	A	A	A	A	A	B	-	A	A	B	B	A	A	A	B	B	A	A		
*RM103	A	A	B	A	A	A	B	B	A	A	B	B	B	B	-	B	A	A	B	A	A	A	B	B	B	A	A	B	-	B	B	A	A			
*RM152	A	A	A	B	B	A	A	B	A	B	A	A	A	B	-	A	B	B	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	B	B	B	B	A		
*RM201	A	A	A	B	A	A	B	B	A	A	A	A	B	A	B	B	A	A	B	B	B	A	A	A	A	B	A	B	B	A	A	A	A	B	B	
*RM206	B	A	B	A	A	B	B	A	A	B	B	-	A	B	-	A	A	B	A	A	A	A	B	A	A	B	B	B	B	A	A	A	A	A	A	
*RM207	B	B	A	B	B	B	B	A	B	B	B	B	A	A	-	B	B	A	A	B	B	A	B	B	B	A	A	A	B	A	A	A	B	B	A	A
*RM210	B	B	A	A	B	B	B	-	B	B	B	A	B	B	A	B	A	A	B	B	A	A	B	A	A	A	B	B	A	-	B	A	B	-	B	A
*RM222	B	B	B	A	B	A	B	A	A	A	A	A	A	A	-	A	B	B	B	-	A	A	B	B	-	B	B	B	A	A	A	B	A	A	B	B
*RM229	-	A	A	A	A	B	A	B	A	B	B	A	B	A	-	B	A	B	B	A	A	B	A	B	-	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B
*RM231	B	A	A	B	B	B	B	B	B	A	A	A	-	A	B	B	A	B	A	A	B	B	B	-	A	A	B	A	A	A	B	B	B	B	B	A
*RM234	B	B	A	B	A	A	A	B	B	B	A	A	B	B	A	B	B	B	B	B	B	A	A	B	B	A	B	B	B	B	A	B	B	A	B	B
*RM283	-	A	B	A	A	-	A	B	A	B	B	B	B	A	A	A	B	B	B	B	A	A	B	B	A	A	B	B	A	A	A	B	B	A	A	B
*RM284	B	B	A	B	A	-	A	A	A	A	A	B	A	B	A	B	A	A	A	B	A	B	A	A	A	B	A	A	A	B	B	B	B	A	A	
*RM315	A	B	A	B	B	A	A	A	A	A	A	B	A	A	-	A	A	B	A	B	A	A	A	B	-	B	B	A	A	B	A	A	A	B	A	
*RM316	B	B	B	B	B	A	B	B	B	A	A	A	A	A	-	B	B	B	B	A	A	B	A	B	A	B	B	A	B	B	-	A	-	B	B	A
*RM408	A	A	A	B	B	A	A	B	A	B	A	A	A	B	A	A	B	B	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	B	A	B	B	B	A
*RM420	B	B	-	A	A	B	A	B	B	A	A	B	B	A	A	B	B	B	A	B	-	A	A	B	B	A	B	B	B	B	A	A	B	A	A	A
*RM431	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	B	A	A	B	B	B	A	A	A	B	A	A	B	B	A	B	B	A	A	A	B	A
*RM481	A	A	B	B	A	A	B	A	B	-	B	A	B	A	-	B	A	B	A	A	A	A	A	A	A	B	B	A	A	B	B	A	A	B	A	A
*RM445	A	A	B	B	B	B	B	-	A	B	A	A	-	A	-	B	A	A	-	B	A	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
*RM560	B	A	B	B	B	B	B	A	A	B	B	A	A	A	A	B	A	B	B	A	A	B	B	B	A	B	B	B	B	B	B	-	-	B	B	B
*RM574	B	B	A	A	A	-	A	-	B	B	B	A	A	A	A	A	B	B	B	B	A	B	B	B	B	A	B	B	B	A	B	B	A	B	B	A
*RM1164	A	B	A	A	B	A	B	B	A	A	A	B	B	A	A	A	A	B	B	A	-	A	B	B	B	A	B	A	B	A	B	B	A	B	A	A
*RM1937	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A	B	B	A	A	B	A	B	-	B	A	A	A	A	-	A	A	A	A	A	A	B	A	B	A	-
*RM3370	A	A	B	A	A	A	A	A	A	B	A	B	A	B	A	A	A	A	A	B	A	B	A	A	A	A	A	B	B	A	B	A	B	B	B	
*RM3461	A	A	A	A	B	A	A	B	A	A	B	-	A	A	A	B	A	B	B	A	A	A	B	A	B	A	B	A	A	A	B	A	B	-	B	B
*RM5349	B	A	A	A	A	A	A	A	A	B	B	A	B	B	-	B	A	B	B	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B
*RM5638	B	A	B	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	-	A	B	A	A	B	A	B	A	B	A	A	A	A	B	B	A	B	A	A	B	A	
*RM7076	A	B	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	B	B	A	B	B	A	B	B	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	

*RM7110	A	A	B	B	A	B	B	A	A	A	A	B	A	B	B	A	B	A	B	A	A	B	B	B	B	A	A	A	B	B	B	A	A	B	B	B	
*RM7124	B	A	B	A	A	B	B	-	A	A	A	A	A	A	B	B	A	-	B	A	B	A	A	B	A	B	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	
*RM7200	B	B	A	B	B	A	B	B	A	B	A	B	B	A	-	A	A	A	B	A	B	B	B	B	-	B	B	B	A	B	B	A	-	B	A	A	
*RM7226	B	B	A	A	A	A	B	B	A	A	A	A	A	A	-	B	A	A	B	B	A	B	A	B	A	A	A	B	A	A	A	A	A	B	A	A	
*RM7269	A	B	B	A	B	B	A	A	A	B	B	B	B	A	B	B	A	B	B	A	B	A	B	A	A	B	A	B	B	A	B	A	A	A	B	B	
*RM7391	B	B	A	A	A	A	B	B	A	B	A	A	A	A	A	B	A	A	B	B	A	B	A	B	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	B	A	A
*RM7423	B	B	B	A	A	B	A	B	B	B	B	B	B	-	A	B	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	B	B	A	A	B	B	A	A
*RM7504	B	B	B	B	-	-	B	B	A	B	A	B	B	B	B	A	A	A	B	A	A	B	B	B	A	B	B	A	-	A	B	A	-	A	B	A	
*RM7511	A	B	A	B	B	B	A	A	B	A	A	B	A	-	A	A	A	A	-	A	A	B	B	A	A	B	A	A	B	A	A	A	A	A	B	A	B
*OG10	B	-	B	B	B	A	B	B	B	A	A	A	A	A	A	B	B	B	B	A	A	B	A	B	A	B	B	A	B	B	A	A	A	A	B	B	A
*OSR28	B	A	A	B	A	A	B	B	A	A	A	A	-	A	-	B	A	A	B	B	-	A	A	A	A	A	B	B	B	B	A	A	-	A	B	B	
*OSR14	B	A	A	A	B	A	A	A	B	B	B	B	B	B	B	A	B	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	B	A	A
*OSR34	A	A	A	B	B	A	A	B	B	B	A	A	A	B	-	A	B	B	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	B	B	B	B	B	B	A	
*RM505	B	B	A	B	A	A	A	B	B	B	A	A	-	-	A	A	A	B	B	B	B	A	B	B	B	A	B	B	B	B	A	B	B	B	B	B	
*OSR22	B	A	B	B	A	B	B	A	A	B	-	A	A	-	-	-	B	A	-	B	A	A	B	B	B	A	B	B	B	B	B	A	A	B	B	B	
*RM336	B	A	B	B	A	B	B	B	A	B	B	A	-	-	A	A	A	A	B	B	B	A	B	B	B	A	B	B	B	B	A	A	A	B	B	B	
*RM473	A	B	A	A	B	A	B	B	A	A	A	B	B	A	A	A	A	B	B	A	-	A	B	-	B	A	B	A	B	A	B	B	A	A	A	A	
*RM7441	-	B	A	A	A	A	A	-	B	B	A	A	B	A	A	A	B	B	B	B	A	A	A	B	B	A	B	B	B	B	A	B	-	A	B	-	
*RM10	B	A	B	B	A	B	A	B	A	B	B	A	A	A	A	A	A	A	-	B	B	A	B	B	B	A	B	B	B	B	A	A	A	B	B	B	
*RM248	B	B	B	A	A	B	A	B	B	A	A	A	B	A	A	B	B	B	A	B	B	A	A	B	B	A	B	B	B	B	A	A	B	A	B	A	
*RM3555	B	B	B	A	-	B	A	B	A	A	A	A	B	A	A	B	B	B	A	B	A	A	A	B	B	A	B	B	B	B	B	A	B	A	B	A	
*RM182	B	A	A	-	A	A	B	A	A	B	-	-	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	B	B	B	A	B	A	B	B	B	A	-	B	B	-	
*RM7283	A	B	-	A	A	A	B	B	A	B	A	A	A	A	A	B	A	A	B	B	A	B	A	B	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	B	A	A
*RM9	B	A	B	-	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	B	B	A	A	A	A	B	A	A	A	B	B	A	B	A	A	A	B	A	
*RM5414	B	B	A	B	B	A	B	B	A	B	A	B	B	A	A	A	A	A	B	B	B	B	B	B	A	B	B	-	A	B	B	B	-	B	A	A	
*OG66	A	A	-	A	-	A	B	B	A	A	A	B	B	A	-	B	A	A	A	A	B	A	B	B	A	-	B	A	A	A	B	-	B	-	B	B	
*RM7446	B	B	A	B	-	B	B	B	B	A	A	A	B	B	B	B	A	B	B	B	A	B	A	A	B	-	B	A	A	A	B	B	B	B	B	B	
*OSR15	B	A	A	A	A	A	B	A	B	A	-	B	A	B	A	B	A	B	B	A	A	A	B	B	A	B	A	A	A	B	B	B	A	B	A	A	
*RM7652	B	-	A	A	B	A	A	A	B	B	B	B	B	A	B	-	A	-	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	-	A	A	

*RM38	A	B	A	B	A	A	B	B	-	-	A	A	A	B	A	A	B	B	A	B	-	A	-	-	-	A	B	A	B	A	B	B	-	B	B	A	
*RM300	A	B	A	A	A	A	A	B	-	-	A	B	B	A	B	B	-	B	A	A	-	B	-	-	-	B	B	B	A	A	A	A	B	B	B	B	
*OG7	A	A	A	A	A	B	A	B	A	B	B	A	-	B	-	B	A	B	B	B	B	-	A	B	-	B	B	-	A	A	A	A	A	A	A	B	
*RM209	B	A	A	A	A	B	A	B	A	B	B	A	-	A	-	B	A	B	B	A	A	B	A	B	-	A	A	-	-	A	A	A	A	B	A	B	
*RM411	A	A	A	A	A	B	B	B	B	A	A	B	B	-	-	B	A	B	B	A	A	-	B	B	A	A	B	A	B	A	B	A	A	A	A	A	
*RM7279	B	B	B	B	A	A	B	B	A	B	A	B	-	-	-	-	A	A	-	-	A	B	B	B	-	A	-	A	-	A	B	A	B	A	B	A	
*RM22	A	A	A	B	B	B	B	B	B	A	A	A	-	-	-	B	A	-	-	-	-	B	-	-	-	-	-	A	-	A	B	A	B	B	A	A	
*RM3412	B	B	B	B	B	A	B	A	A	A	A	B	A	-	A	B	A	A	B	A	-	-	B	B	-	A	-	A	A	B	A	B	B	A	A	A	
*F4	B	A	B	A	A	A	A	A	A	B	A	A	B	-	-	A	B	B	A	A	B	A	A	B	B	B	A	A	B	B	B	B	B	A	B	A	B
*G3	A	A	B	A	A	A	B	B	A	A	B	B	B	B	-	B	A	A	B	A	A	A	B	B	B	A	A	B	A	A	B	A	B	B	A	A	
*C4	B	B	A	-	A	B	B	B	B	A	A	A	B	-	B	B	A	B	B	B	A	B	A	A	A	A	B	A	A	A	B	B	B	B	B	B	
*OG81	B	A	A	B	A	A	B	A	A	A	A	A	B	A	B	B	A	B	A	B	A	A	B	A	A	A	B	-	A	B	A	A	B	A	A	B	
*RM220	B	A	B	A	A	A	A	B	A	B	B	B	A	A	A	A	B	-	-	B	A	-	B	B	A	A	-	-	A	A	A	B	B	A	A	A	
*RM437	-	B	B	B	A	A	B	B	A	B	A	B	B	B	B	A	A	A	B	A	A	B	B	B	A	B	B	A	-	A	B	A	B	A	B	A	
*RM484	A	B	-	A	B	A	-	-	A	A	B	-	B	A	A	-	B	A	B	B	A	B	A	A	-	A	A	A	A	A	B	B	-	B	B	B	
*RM500	A	A	B	B	A	B	B	A	A	A	A	B	A	B	B	A	B	A	B	A	A	B	B	B	B	A	A	-	B	B	B	A	A	B	B	B	
*RM7215	A	A	A	A	A	A	-	A	B	A	B	A	B	A	-	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	B	A	A	A	A	A	
*RM7389	B	A	A	B	A	B	B	A	A	B	A	B	-	B	B	A	A	B	B	B	B	B	B	-	A	A	-	B	-	A	A	A	A	A	A	B	A
*RM1261	A	B	B	B	A	B	-	A	B	A	A	B	B	B	-	B	A	B	-	A	B	B	A	B	B	A	B	A	B	B	A	A	B	A	A	A	
*I3	A	B	A	B	A	B	A	B	B	A	A	B	B	A	B	A	B	B	-	A	A	B	B	A	A	A	B	B	A	A	A	B	A	B	B	B	
*L2	A	A	B	A	A	A	A	A	A	B	A	B	A	B	-	A	A	A	A	A	B	A	B	A	A	A	-	B	B	A	B	A	B	B	B		

data type ri self

160 158 0

	386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400	401	404	405	406	407	410	411	412	413	414	415	416	417	418	419	421	422	423	424	425	426
*OG26	-	B	-	-	-	A	B	A	A	B	A	A	B	B	A	B	A	B	A	B	A	-	B	-	-	A	A	B	-	A	-	B	-	-	A	-
*OG32	B	B	-	B	B	-	A	B	A	B	B	B	A	-	A	-	B	A	-	B	A	B	A	A	A	-	A	B	B	A	B	A	A	A	-	A
*OG43	A	A	A	B	A	-	B	B	A	B	A	A	B	A	A	B	B	B	A	B	-	A	B	A	-	A	B	B	A	-	A	B	B	A	A	A
*OG74	A	A	A	A	B	A	-	B	A	A	A	A	A	-	A	A	B	A	-	B	A	A	B	B	A	A	A	B	A	A	A	A	A	B	B	B

*OG79	A	-	B	B	A	A	A	B	B	B	A	A	B	A	A	B	B	A	B	A	A	B	B	B	-	B	A	-	A	-	A	B	B	B	A	A	
*OSR30	B	B	A	B	A	B	A	B	A	B	B	B	B	-	B	A	B	B	B	A	A	A	B	B	-	B	A	A	B	-	B	A	A	A	A	A	
*RM1	B	B	-	B	A	B	B	B	A	A	A	A	B	B	A	A	B	A	B	A	B	A	-	A	B	B	A	-	B	B	A	A	B	A	B		
*RM5	A	A	B	B	A	A	B	A	A	B	A	A	B	B	B	A	A	A	-	-	-	B	B	-	B	A	B	B	A	A	A	B	B	A	-	-	
*RM55	A	A	-	A	B	A	A	A	B	B	B	-	A	A	B	B	A	A	-	A	-	-	B	-	B	A	A	B	-	A	A	B	-	A	B	A	
*RM144	B	A	-	A	A	A	B	A	A	A	B	A	-	A	A	B	B	B	-	A	B	B	A	-	A	B	B	B	B	B	B	B	A	A	-	A	A
*RM184	B	B	A	B	-	A	B	B	A	B	A	B	B	A	A	-	A	A	B	A	A	A	B	A	-	A	A	A	A	B	B	B	B	B	B	A	A
*RM204	A	A	-	A	A	A	B	A	B	B	A	A	B	A	B	A	A	B	-	A	B	-	B	-	-	A	B	B	-	A	-	A	A	A	A	-	
*RM217	B	A	-	A	A	-	B	A	B	B	A	A	B	A	B	B	-	B	B	A	B	A	B	-	A	A	B	B	-	A	A	A	A	-	-	B	
*RM224	B	A	B	A	-	A	B	A	A	A	B	A	B	A	A	B	B	B	B	A	B	B	A	B	-	B	B	B	B	B	B	A	A	A	A	A	
*RM225	A	A	A	A	A	-	B	A	B	B	A	A	-	A	B	-	A	B	B	A	B	A	B	-	A	-	B	B	A	-	A	A	A	A	B	B	
*RM235	A	B	-	A	B	A	B	A	A	A	A	A	B	A	A	B	B	B	B	A	B	-	A	-	B	B	A	B	B	A	A	A	A	A	B	-	B
*RM242	A	A	-	A	B	-	A	B	A	A	A	A	A	A	B	A	B	A	-	B	-	-	B	B	A	A	A	B	B	B	B	A	A	A	B	B	
*RM246	A	B	B	B	A	A	A	B	-	A	A	B	B	A	A	B	B	A	A	A	A	B	B	B	-	B	A	B	A	-	A	A	A	A	A	A	
*RM254	A	-	A	A	A	A	A	B	A	A	A	B	A	A	A	A	A	B	B	-	-	B	-	A	B	A	B	B	B	A	-	A	A	A	-	A	
*RM270	A	B	B	A	B	A	B	B	B	A	A	A	B	A	A	B	B	B	B	A	B	-	A	A	B	B	B	B	B	A	A	A	A	A	B	-	A
*RM307	B	B	B	B	A	A	B	B	A	A	A	B	-	B	A	B	B	A	B	A	B	A	B	B	A	B	B	-	B	-	A	B	B	A	B	A	
*RM335	B	B	A	B	A	A	A	A	A	A	A	B	B	A	B	B	A	-	B	-	A	-	-	A	B	A	B	A	A	A	-	-	-	A	A		
*RM338	B	A	A	B	B	A	A	B	A	A	B	A	-	B	A	A	B	A	A	A	A	A	A	-	A	B	B	A	A	-	B	A	B	A	A	-	
*RM341	A	B	A	A	A	B	A	B	B	A	A	A	-	B	A	A	A	A	A	B	-	B	A	B	B	B	A	-	A	-	A	B	B	B	A	A	
*RM345	A	B	-	A	A	B	-	B	A	A	A	A	-	A	A	A	A	-	A	A	-	B	A	-	A	B	B	B	A	B	B	A	A	A	-	-	
*RM348	-	A	A	A	A	-	A	A	A	B	B	B	-	B	B	B	A	-	-	B	B	-	A	A	B	A	A	A	-	A	B	B	B	-	A		
*RM349	-	A	A	A	A	A	A	B	B	A	A	B	-	A	A	B	A	A	A	A	-	B	A	A	B	B	A	B	B	B	A	B	B	B	B	-	
*RM418	-	B	A	A	B	A	B	A	A	A	A	B	A	A	B	B	A	B	A	-	A	B	-	A	B	A	-	A	B	B	A	A	-	A	B	B	
*RM474	B	B	-	A	B	A	B	A	-	B	B	B	B	B	B	A	-	B	B	B	A	-	B	B	B	A	B	A	A	B	B	B	B	B	-	A	
*RM489	B	A	-	A	B	-	B	B	A	B	B	-	A	A	B	B	B	A	B	B	-	A	A	B	B	B	A	B	B	A	B	B	B	B	B	B	
*RM510	B	B	-	B	B	-	A	B	A	-	B	B	A	-	A	-	B	A	-	B	A	B	A	A	B	-	A	B	B	B	B	B	B	B	-	A	
*RM569	-	A	-	-	B	A	A	A	A	B	-	-	-	-	-	B	A	A	A	-	-	B	A	A	A	A	B	-	A	B	-	-	A	B	-		
*RM1075	A	A	A	B	A	B	B	A	B	B	A	A	A	-	A	A	A	A	-	B	A	-	B	-	-	B	B	B	B	B	A	B	B	-	B	B	

*RM1243	B	A	A	B	B	A	B	A	A	-	B	-	B	-	A	A	B	B	B	B	B	A	A	A	B	A	B	A	-	B	A	A	A	-	B	B	
*RM3153	-	A	-	-	A	A	A	B	B	A	B	A	A	-	A	A	A	B	-	B	-	-	A	A	A	B	B	A	A	A	B	-	-	A	A	-	
*RM3404	B	B	A	A	B	A	B	A	A	-	A	-	A	-	B	B	A	B	A	A	B	B	A	A	B	A	A	A	B	A	A	A	A	B	B		
*RM3428	A	A	A	B	A	A	A	-	A	B	B	-	A	B	-	A	B	A	A	B	B	A	A	B	-	A	A	A	B	-	A	-	B	A	A	A	
*RM3455	A	A	A	A	A	A	A	B	B	B	A	A	A	A	B	A	A	B	A	B	-	A	A	-	A	B	A	A	A	A	A	A	-	A	-	B	
*RM3740	B	-	B	B	A	B	B	B	A	A	B	A	B	B	A	A	B	B	A	B	A	B	A	B	A	B	B	-	-	-	A	A	A	B	A	B	
*RM5359	B	-	B	B	A	A	B	B	A	A	A	A	B	A	A	B	B	B	A	B	A	A	B	B	B	A	B	-	A	-	B	A	A	B	B	A	
*RM6314	B	A	B	A	B	A	B	B	B	-	A	A	B	B	A	B	B	B	-	B	-	-	B	-	-	A	B	B	B	B	A	B	B	A	B	A	
*RM6925	-	A	B	A	B	A	B	-	A	A	A	A	A	A	-	B	-	A	-	B	B	-	A	A	-	A	B	B	A	-	A	B	B	B	B	B	
*RM7033	B	A	A	B	A	-	A	A	B	B	A	A	A	B	B	A	A	B	-	B	A	-	B	B	A	B	B	B	B	B	A	B	B	B	B	B	
*RM7080	A	A	B	A	A	-	B	A	B	A	B	B	B	A	A	A	A	A	A	B	B	-	A	A	B	A	B	B	A	A	A	A	A	B	B	A	
*RM7161	B	A	A	A	B	B	B	A	A	A	B	-	-	-	A	B	B	B	-	B	B	A	A	A	A	A	B	A	B	B	A	A	B	A	A	B	
*RM7205	A	B	B	A	A	B	A	B	A	A	B	A	A	B	A	-	B	B	A	B	A	-	A	-	-	A	A	A	A	A	B	B	B	B	B	B	
*RM7213	B	B	A	B	B	-	B	A	A	B	A	B	-	A	A	A	A	A	B	B	B	B	B	-	A	-	B	A	B	-	A	A	A	B	B	B	
*RM7275	A	A	B	B	A	A	B	B	A	B	B	-	A	-	A	A	B	B	A	B	A	A	A	B	A	A	-	A	B	A	A	B	A	A	A	A	
*RM7285	A	A	B	-	A	A	A	B	B	A	B	B	A	A	A	A	A	B	-	B	-	A	A	A	A	B	B	A	A	A	B	-	-	A	A	A	
*RM7286	A	-	B	A	A	A	A	B	A	A	A	B	A	A	A	-	B	A	-	-	B	A	B	B	B	A	-	A	A	A	-	B	-	-	A	A	
*RM7300	B	B	A	B	B	A	B	A	A	B	-	A	B	-	A	B	A	A	A	B	-	B	B	B	B	-	B	B	A	A	B	-	-	B	B	A	
*RM7306	B	B	B	A	B	B	A	B	A	A	A	A	A	-	B	A	B	A	B	B	A	-	B	B	A	A	A	B	B	A	B	-	-	B	B	A	
*RM7338	B	A	A	B	B	A	B	A	A	A	A	-	B	-	B	B	A	B	A	A	A	B	A	A	B	A	B	A	B	B	A	B	-	A	A	B	
*RM7390	A	B	A	A	A	A	B	B	A	-	-	A	A	A	A	A	B	A	A	B	-	B	B	-	A	A	A	B	A	A	A	B	-	A	A	B	
*RM7463	A	-	A	A	A	A	A	-	A	B	B	A	B	B	B	A	A	A	A	-	B	A	A	B	A	A	-	A	B	A	A	-	B	A	A	A	
*RM7492	B	B	-	A	B	A	B	A	A	B	B	B	B	B	B	A	-	B	-	B	A	B	B	B	B	A	B	A	A	B	A	B	B	B	A	A	
*RM7580	A	A	-	-	A	B	A	A	B	B	A	A	-	-	A	B	B	B	B	B	A	-	A	B	A	B	B	B	A	A	B	A	A	A	A	B	
*RM7581	A	A	A	B	A	B	B	A	B	B	A	A	A	-	A	A	A	A	B	B	-	A	A	B	-	B	B	B	B	-	A	B	B	B	B	B	
*RM7600	B	B	A	A	A	B	-	B	B	A	A	A	B	B	A	B	B	B	B	B	A	B	B	A	A	A	A	B	B	A	A	-	A	-	A	-	
*RM252	B	A	A	-	-	A	A	B	B	B	-	B	B	B	-	-	B	A	A	B	-	-	-	A	-	-	B	B	-	B	B	A	-	-	-	B	
*RM6822	A	B	-	B	A	B	B	B	A	A	-	A	B	B	A	B	B	B	A	B	-	B	B	A	A	A	B	A	B	B	B	B	B	B	B	A	A
*OSR19	-	A	A	A	A	B	B	A	B	A	-	A	B	-	B	B	A	B	B	A	B	A	B	B	A	A	-	A	A	-	A	B	B	-	B	B	

*RM422	B	A	A	A	A	A	A	B	B	A	-	B	B	A	A	B	A	A	A	A	A	B	A	A	B	-	A	B	B	B	A	B	B	B	B	B	B	B	B			
*RM7202	A	B	B	A	A	A	A	B	A	A	A	B	B	A	A	B	B	A	A	A	A	B	B	B	A	A	A	B	A	A	A	B	B	A	A	B	B	A	A	B		
*RM533	B	B	A	B	B	A	B	A	A	B	B	B	A	A	B	B	A	B	A	A	A	B	A	A	B	A	B	A	B	B	A	B	A	B	B	B	B	B	B			
*RM214	B	A	A	-	B	A	B	A	A	A	-	A	-	A	B	B	A	B	A	A	B	B	A	A	B	A	B	A	B	B	A	A	A	-	A	B						
*RM7555	A	B	-	B	A	B	-	B	A	A	-	B	-	A	A	A	A	-	A	B	B	B	A	B	B	B	B	B	A	B	A	A	A	A	A	A	A	B	A			
*OSR18	B	B	A	B	B	B	A	B	B	B	-	-	A	B	B	A	A	B	A	B	A	B	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	B		
*RM154	B	A	A	B	A	B	A	A	B	A	-	A	A	B	B	A	A	B	-	B	A	A	A	A	A	B	B	B	B	B	A	B	B	-	B	B						
*RM5919	B	B	A	A	B	B	-	A	B	B	B	A	A	A	B	B	B	-	B	B	B	A	A	A	A	B	A	-	B	B	B	A	A	B	B	A						
*RM7049	A	A	B	-	A	A	A	A	B	B	A	A	-	A	A	B	B	B	B	B	A	-	A	B	A	B	B	B	A	A	B	A	A	A	A	A	A	B				
*RM7364	A	B	B	A	A	B	B	A	B	-	A	A	B	-	A	B	B	A	B	A	B	A	B	A	A	A	A	B	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A		
*RM7364	B	A	-	A	A	B	A	A	-	-	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	B	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A	B	A	B	A
*RM7501	B	B	A	B	A	A	A	A	A	A	-	A	B	A	B	B	B	B	B	A	A	B	A	A	B	A	B	B	B	A	A	-	B	-	B	B						
*RM7210	A	B	B	B	B	-	B	B	-	A	A	-	A	A	A	A	A	B	B	A	B	A	A	A	A	B	A	B	B	A	-	A	A	-	B	A						
*RM7208	B	A	B	A	A	-	A	A	B	B	B	A	B	-	B	B	B	A	A	B	A	B	B	B	B	A	B	A	A	B	-	-	B	A	B	B						
*RM7074	-	-	A	B	-	A	B	A	A	A	A	A	-	-	-	B	A	B	A	B	-	B	-	A	B	A	B	A	B	B	A	-	-	-	A	B						
*RM11	B	B	A	-	B	A	B	A	A	A	A	B	A	A	B	B	A	B	A	A	A	B	A	A	B	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	B	B			
*RM21	-	B	-	A	A	A	A	B	B	A	A	-	A	A	B	B	B	B	A	B	-	-	B	B	B	B	-	-	B	B	A	A	B	B	B	A						
*RM31	A	B	A	B	A	B	B	B	A	A	B	B	B	B	A	B	B	B	A	B	A	A	A	A	A	A	B	A	B	B	B	B	B	B	B	B	A	A				
*RM103	A	B	B	A	A	B	-	B	A	A	A	A	-	A	A	A	A	-	A	A	B	B	A	B	A	B	B	B	A	B	B	A	A	A	A	A	B	A				
*RM152	A	A	B	A	B	A	-	-	B	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	B	B	B	A	A	-	A	B	B	A	A	A	B	B	B	B	B	B	B	B	B		
*RM201	A	A	B	A	B	B	A	B	A	A	A	A	A	B	B	A	B	A	A	B	A	A	B	B	A	A	B	B	B	B	A	B	B	B	B	A	B	A	B	B		
*RM206	A	A	A	-	A	-	B	A	A	B	B	-	B	A	A	A	B	A	B	A	B	B	B	B	-	B	B	B	B	B	-	A	A	-	A	A						
*RM207	A	B	B	B	A	A	B	B	B	A	B	B	A	A	A	A	B	A	A	A	B	A	B	B	B	B	B	A	-	A	A	B	B	A	A	A						
*RM210	B	A	A	B	A	B	A	A	B	B	B	B	B	B	A	A	B	B	A	B	B	A	A	A	B	B	B	B	A	B	B	A	B	B	A	B	B	A				
*RM222	B	B	A	A	B	A	B	A	A	B	B	B	B	B	B	A	A	B	B	B	A	B	B	A	B	A	B	A	A	B	B	B	B	B	B	B	B	A	A			
*RM229	A	A	B	-	A	A	B	B	A	B	B	A	A	B	A	A	B	B	A	A	A	B	A	B	A	A	A	B	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	
*RM231	B	A	A	B	B	A	B	A	A	A	B	A	A	B	B	B	B	A	A	A	A	A	A	B	A	B	A	A	B	A	A	B	B	B	A	B	B					
*RM234	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	B	A	A	B	B	A	B	A	A	A	B	A	A	A	B	B	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	B	B			
*RM283	B	B	B	B	A	-	B	B	A	A	A	A	B	B	A	B	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	A	B	B	A	A	B	B	A	A	B	A	B		

*RM284	A	A	B	A	A	B	A	A	B	B	A	A	A	A	A	B	B	B	B	B	A	B	A	B	A	B	B	B	A	A	B	A	A	A	A	A	A
*RM315	B	A	B	A	A	A	B	B	B	A	A	B	B	A	A	B	A	B	B	B	B	B	B	B	B	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A
*RM316	B	B	B	A	A	A	B	A	A	-	B	B	A	A	B	B	B	A	A	B	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	B	B	A	B
*RM408	A	A	B	A	A	A	B	-	A	A	A	A	A	A	B	B	A	A	B	B	B	B	B	A	A	-	-	B	B	A	A	A	B	B	B	B	B
*RM420	A	B	A	B	A	A	A	-	A	-	-	A	A	A	B	B	A	A	B	A	A	-	A	B	A	B	A	A	A	A	B	A	A	A	B	A	
*RM431	B	B	A	A	A	A	B	B	B	A	A	A	B	B	A	B	B	B	B	B	B	A	B	B	B	A	A	A	B	B	A	A	A	A	B	A	A
*RM481	B	A	A	B	B	A	B	A	A	A	B	A	-	B	-	A	B	B	A	B	B	A	A	A	B	B	B	A	A	B	A	A	A	A	A	B	B
*RM445	-	-	A	B	A	A	B	B	-	B	B	A	B	B	B	-	B	A	A	-	B	A	A	-	A	-	-	B	B	-	A	A	-	A	A	A	
*RM560	B	B	A	A	B	A	B	A	A	A	A	B	A	A	B	B	A	B	A	A	B	B	A	A	B	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	B	B
*RM574	A	A	A	A	A	A	A	A	B	B	B	-	A	B	A	B	B	B	A	A	A	A	B	A	A	A	B	B	A	A	B	A	A	A	A	A	A
*RM1164	A	A	A	A	B	A	A	B	A	B	B	-	A	B	A	A	-	A	A	A	A	-	A	A	A	A	B	A	A	B	B	A	B	A	A	-	
*RM1937	B	B	A	-	B	A	B	A	A	B	A	-	B	A	A	B	A	A	B	A	A	B	B	A	-	A	A	A	A	A	B	A	A	A	B	A	
*RM3370	B	B	A	B	A	A	B	A	B	B	A	A	B	A	A	A	A	A	B	B	B	B	B	B	A	A	B	B	B	B	A	A	A	A	A	B	
*RM3461	B	A	A	B	A	A	A	-	A	A	-	A	A	B	B	A	B	A	A	A	A	A	A	A	B	B	B	B	B	A	B	B	B	B	A	B	A
*RM5349	A	A	B	A	A	A	B	A	A	B	B	-	B	B	-	A	B	B	A	A	A	B	A	B	A	A	A	B	B	B	B	A	A	A	A	-	
*RM5638	B	A	B	B	A	A	B	B	B	B	A	A	B	A	B	A	B	B	A	A	B	A	B	B	B	A	B	B	A	-	B	B	B	B	A	A	
*RM7076	B	A	A	A	A	A	A	B	B	A	A	A	B	A	A	B	A	A	A	A	A	B	A	A	B	A	A	B	B	B	A	B	B	B	B	B	
*RM7110	B	-	A	-	B	A	B	A	A	A	A	B	B	A	B	B	A	B	A	A	A	B	A	A	B	A	B	A	B	B	A	B	A	-	A	B	
*RM7124	B	A	B	B	A	A	B	A	A	A	A	B	B	B	B	A	A	A	A	A	-	B	B	B	B	A	B	B	A	A	A	B	B	A	A	B	
*RM7200	B	B	A	B	A	A	B	B	-	A	A	B	B	B	A	B	B	A	-	A	B	A	B	B	A	B	A	A	B	A	A	B	B	-	A	A	
*RM7226	A	A	A	B	A	A	A	-	A	B	B	-	A	B	-	A	B	A	A	B	B	A	A	B	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A
*RM7269	A	A	B	A	A	B	B	A	A	A	A	B	B	A	A	B	B	A	B	A	B	B	B	B	B	A	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	A
*RM7391	A	A	A	-	A	A	A	-	A	B	B	A	A	B	B	A	A	A	A	B	B	A	A	B	A	A	A	A	B	A	A	-	B	A	A	A	
*RM7423	A	B	A	B	A	B	B	B	A	A	B	-	A	A	A	B	B	B	A	B	A	B	A	A	A	A	B	A	B	B	B	B	B	B	B	A	A
*RM7504	B	B	B	B	A	A	B	B	-	A	A	B	B	B	A	B	B	A	A	A	B	A	-	B	A	B	A	B	B	A	A	B	B	A	B	A	A
*RM7511	B	B	B	A	B	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	B	A	A	A	-	B	B	B	B	A	B	B	
*OG10	B	B	B	-	A	A	-	A	A	A	B	B	A	A	B	B	-	A	A	B	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	B	B	A	B
*OSR28	A	A	A	A	B	B	A	B	A	A	A	A	A	B	B	A	B	A	A	B	A	A	B	B	A	-	A	B	B	B	B	A	B	A	B	B	
*OSR14	B	A	A	B	A	B	A	A	B	A	A	A	A	B	B	A	A	B	A	B	A	A	A	A	A	B	B	B	B	A	B	B	B	B	B	B	

*OSR34	A	A	B	A	B	A	A	-	B	A	A	A	A	A	-	B	A	A	A	B	B	B	A	A	B	A	B	B	A	A	A	B	B	B	B	B	B	
*RM505	B	A	A	A	A	A	B	A	-	A	B	B	A	A	B	B	A	B	A	A	B	B	A	A	A	B	B	A	A	B	B	A	A	-	B	B		
*OSR22	B	B	A	A	B	A	B	A	A	A	A	-	A	A	B	B	A	B	A	A	B	B	A	A	B	A	A	A	A	B	A	A	A	A	B	B		
*RM336	B	A	A	A	A	A	B	A	A	-	B	B	A	A	B	B	A	B	A	A	B	B	A	A	B	-	A	A	A	B	B	A	A	-	A	B		
*RM473	A	A	A	A	B	A	A	B	A	B	B	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	-	A	A	A	B	B	A	A	B	-	A	B	A	A	-		
*RM7441	B	A	A	A	A	A	B	A	A	A	B	B	A	A	B	B	A	B	A	A	B	B	A	A	A	A	A	A	A	-	A	A	A	A	B	B		
*RM10	B	A	B	A	A	A	B	A	A	A	B	B	A	A	B	B	A	B	A	A	B	B	A	A	A	B	A	A	A	B	B	A	A	A	A	B		
*RM248	A	B	A	B	A	A	A	A	-	B	A	A	A	B	B	A	A	B	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	A	B	A	A	A	B	A	A		
*RM3555	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	B	A	A	B	B	A	A	A	A	A	B	A	B	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	
*RM182	B	A	A	A	A	A	B	A	A	A	B	B	A	A	B	B	A	B	A	A	B	B	A	A	-	A	A	A	A	B	A	A	A	A	B	B		
*RM7283	A	-	A	A	A	A	A	-	A	B	B	A	A	B	B	A	A	A	A	B	B	A	A	B	A	A	A	A	B	A	A	-	B	A	A	A		
*RM9	-	A	B	-	A	A	B	B	A	B	A	A	B	-	B	A	A	A	A	A	A	B	B	B	B	A	B	B	B	A	A	B	B	A	A	B		
*RM5414	B	B	A	B	A	A	B	B	A	A	A	B	B	B	A	B	B	A	-	B	B	A	B	B	A	B	A	B	B	A	A	B	B	B	A	A		
*OG66	B	-	B	B	-	A	B	A	A	B	B	A	A	A	B	B	B	A	B	B	A	A	A	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	A	
*RM7446	A	A	B	B	A	B	A	A	B	A	A	A	B	A	A	A	A	B	B	B	B	A	A	A	A	B	B	A	A	A	B	A	A	A	A	A		
*OSR15	A	A	A	A	A	A	B	A	A	B	B	B	-	B	B	B	A	-	A	B	B	A	A	A	B	A	A	A	A	B	A	B	B	-	A	A		
*RM7652	A	A	A	B	A	B	B	A	B	B	A	A	A	A	A	A	A	B	B	B	A	A	B	B	A	B	B	B	B	A	B	B	B	B	B	B		
*RM38	-	-	B	A	B	A	B	A	B	A	B	-	A	A	-	A	A	A	A	B	B	B	A	A	B	B	B	A	A	A	B	B	A	B	B	B		
*RM300	-	-	B	A	A	-	A	B	B	B	A	-	A	B	A	A	A	A	A	B	B	A	B	B	A	B	A	A	A	A	A	-	A	-	A	A		
*OG7	A	A	B	B	A	A	B	B	A	B	B	A	A	B	A	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	A	A	B	B	A	A	A	A	A	B	B	A
*RM209	A	A	B	B	A	A	B	B	A	B	B	B	A	B	B	A	B	B	A	B	A	B	A	B	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	B	A	A	
*RM411	A	A	A	A	A	A	B	A	A	-	B	A	B	B	A	A	A	A	A	A	A	-	A	A	A	A	A	A	B	B	B	A	A	A	A	A	B	
*RM7279	B	B	B	B	B	A	B	B	B	A	A	A	B	B	A	B	B	A	A	A	B	A	B	B	A	B	B	B	B	A	A	B	B	-	-	A		
*RM22	B	B	A	-	B	A	A	-	A	-	B	-	A	B	B	B	B	A	A	A	A	A	B	A	-	A	A	B	B	A	B	B	B	-	-	B		
*RM3412	B	B	A	B	A	-	B	B	A	B	A	A	B	A	-	B	B	B	A	B	B	A	B	A	-	B	B	B	A	-	-	B	A	A	A	A		
*F4	A	A	A	A	A	-	B	A	B	A	A	A	B	A	B	-	A	B	B	A	B	A	B	B	A	A	B	-	A	-	A	B	B	A	-	B		
*G3	A	B	B	A	A	B	-	B	A	A	A	A	-	A	A	A	A	-	A	A	B	B	A	B	A	B	B	-	A	B	B	A	A	A	-	A		
*C4	A	A	B	B	A	B	A	A	B	A	A	A	B	A	A	A	A	B	-	B	B	A	A	A	A	B	B	-	A	A	B	A	A	A	-	A		
*OG81	A	B	A	A	B	B	B	B	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	-	B	A	A	B	B	A	A	A	B	B	B	B	A	A	-	B	B		

*RM220	B	B	B	B	A	B	B	B	A	A	A	A	B	B	A	A	B	B	A	B	A	B	A	-	A	B	B	A	A	B	-	A	A	-	-	B	
*RM437	B	B	B	B	A	A	B	B	-	A	A	B	-	B	A	B	B	A	A	A	B	A	B	B	A	B	A	B	B	A	A	B	B	A	B	A	
*RM484	-	B	A	B	B	A	-	A	A	A	A	A	B	B	A	B	A	B	-	B	A	B	B	-	B	A	A	B	A	A	B	B	B	B	B	A	
*RM500	B	-	A	A	B	A	B	A	A	A	A	B	B	A	B	B	A	B	A	A	A	B	A	A	B	A	B	A	B	B	A	B	A	B	A	B	
*RM7215	-	A	A	B	A	B	-	A	B	B	A	A	A	B	A	A	A	A	-	B	A	B	A	B	A	B	B	B	B	B	B	A	B	B	-	B	B
*RM7389	B	A	A	A	A	A	A	B	B	A	A	B	B	A	A	B	A	A	-	A	B	B	B	B	B	B	A	B	B	B	A	B	B	B	B	B	
*RM1261	A	A	B	A	A	B	A	A	B	A	A	A	A	B	B	B	A	B	B	A	A	A	B	B	B	B	A	B	A	A	A	A	A	A	-	B	A
*I3	A	B	A	A	A	B	A	B	B	A	A	B	A	B	A	A	A	A	B	B	B	B	B	B	B	B	A	-	A	A	A	B	B	B	A	A	
*L2	B	B	A	B	A	-	B	A	B	B	A	A	B	A	A	A	A	A	-	B	A	B	B	B	A	A	B	B	B	B	A	A	A	A	A	A	B

data type ri self

160 158 0

	427	429	430	431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	444	446
*OG26	A	A	-	B	A	B	A	A	-	-	A	A	B	B	-	A
*OG32	B	B	A	B	A	B	A	A	A	A	B	A	A	B	B	B
*OG43	A	A	B	B	A	A	A	A	A	A	B	B	A	B	A	B
*OG74	A	B	-	B	A	B	A	B	B	A	A	A	A	A	A	B
*OG79	A	B	A	A	A	B	B	A	B	A	B	B	A	A	A	A
*OSR30	A	-	A	A	A	B	B	A	B	-	B	B	A	A	B	-
*RM1	B	B	A	A	-	B	B	A	B	A	A	B	B	B	A	B
*RM5	A	B	B	B	A	A	A	A	B	A	A	B	A	A	-	B
*RM55	A	A	B	B	-	A	A	-	A	B	B	A	A	A	B	-
*RM144	A	A	A	B	A	B	A	-	B	B	A	B	B	B	-	B
*RM184	B	A	-	B	B	B	B	B	A	A	B	A	B	A	B	B
*RM204	B	A	B	A	B	A	B	A	-	B	B	B	B	A	-	B
*RM217	-	A	A	A	-	A	B	A	A	B	-	B	A	A	A	-
*RM224	A	A	A	A	A	B	A	A	B	B	A	B	B	B	-	B
*RM225	B	A	B	A	B	A	B	A	B	B	B	B	B	A	A	B

*RM235	B	B	-	A	A	B	-	A	-	B	B	-	B	B	A	-
*RM242	B	B	B	B	A	B	B	B	B	A	A	A	A	A	A	B
*RM246	A	B	A	-	A	B	B	A	-	A	A	B	A	A	-	A
*RM254	A	A	A	A	A	B	B	A	A	B	A	A	-	B	B	A
*RM270	B	B	A	A	A	B	-	A	A	A	B	A	B	B	-	A
*RM307	A	A	A	B	A	A	A	B	A	B	B	B	A	A	A	A
*RM335	A	A	-	B	B	B	-	B	A	B	A	A	B	A	A	A
*RM338	A	A	A	A	A	B	A	A	A	B	A	B	A	A	A	A
*RM341	A	B	B	B	A	A	-	B	B	B	A	A	A	A	A	A
*RM345	B	B	B	B	A	A	B	B	A	A	A	A	A	A	B	B
*RM348	B	B	B	B	A	A	B	B	A	A	A	B	B	A	A	B
*RM349	B	B	B	B	A	A	A	B	-	B	B	B	A	B	-	A
*RM418	B	-	-	-	A	B	A	A	B	B	-	-	A	-	-	-
*RM474	B	B	-	A	A	A	B	A	B	A	A	A	B	A	A	B
*RM489	A	A	B	A	B	A	A	A	A	B	B	B	B	B	A	B
*RM510	A	B	A	B	A	B	A	B	A	A	B	A	-	B	B	A
*RM569	A	A	B	-	A	-	-	-	-	A	A	B	B	A	A	B
*RM1075	B	A	A	A	A	B	B	B	A	B	A	A	A	B	A	A
*RM1243	A	B	A	B	B	A	A	A	A	B	A	A	-	B	B	B
*RM3153	B	A	B	B	B	-	-	-	-	B	B	A	A	A	A	B
*RM3404	B	B	A	B	A	B	A	A	B	B	A	A	A	B	B	A
*RM3428	A	A	A	A	A	A	B	-	A	A	B	A	A	B	-	B
*RM3455	A	B	A	A	A	A	B	A	B	B	A	A	A	A	A	B
*RM3740	B	B	A	A	A	B	B	-	B	A	A	B	B	B	A	B
*RM5359	B	A	B	A	-	B	B	-	A	A	B	-	A	-	A	B
*RM6314	A	A	B	B	A	A	A	B	A	B	B	B	A	B	B	A
*RM6925	B	-	B	B	B	A	A	B	A	B	A	A	B	B	A	B
*RM7033	B	B	B	A	A	B	A	A	B	B	A	A	A	B	A	A
*RM7080	A	B	A	B	A	A	B	B	B	A	B	A	A	A	A	B

*RM7161	A	B	B	B	B	B	A	A	B	-	B	A	-	B	B	B
*RM7205	B	B	B	B	B	A	A	B	B	A	B	A	A	A	-	B
*RM7213	B	B	A	A	B	B	A	B	A	B	B	B	A	A	A	-
*RM7275	A	A	A	A	A	A	B	A	A	B	B	-	A	B	-	B
*RM7285	B	A	A	B	B	A	-	-	B	B	-	A	A	-	A	B
*RM7286	B	-	A	B	B	A	A	B	A	A	B	A	-	B	A	-
*RM7300	B	A	B	B	A	B	B	B	B	B	B	B	B	A	B	B
*RM7306	B	B	A	B	A	B	B	A	B	A	A	A	A	A	A	B
*RM7338	B	B	B	B	B	B	A	A	B	B	B	A	B	B	B	-
*RM7390	A	B	-	B	-	-	-	-	B	A	A	A	A	B	A	A
*RM7463	A	-	A	-	A	A	B	A	A	A	B	A	A	-	-	-
*RM7492	B	B	-	A	A	A	B	A	B	A	A	B	B	A	A	B
*RM7580	B	A	B	B	A	A	B	B	A	B	A	A	A	B	A	B
*RM7581	B	A	A	A	A	B	B	B	A	B	A	A	A	B	A	A
*RM7600	B	B	A	A	A	B	A	A	A	A	A	B	A	B	A	A
*RM252	A	A	B	-	A	A	A	-	A	A	B	B	B	B	-	-
*RM6822	A	A	A	A	B	B	B	B	B	A	A	A	B	A	B	B
*OSR19	B	A	B	A	A	A	B	A	B	B	A	B	B	A	-	B
*RM422	B	B	B	B	A	A	A	A	B	-	-	B	A	B	A	A
*RM7202	A	B	A	B	A	B	A	A	B	A	A	B	A	A	A	B
*RM533	B	B	B	B	B	B	A	A	B	B	B	A	-	B	B	B
*RM214	B	B	B	B	B	B	A	A	B	B	B	A	A	B	B	-
*RM7555	B	B	B	B	A	A	B	B	A	A	A	A	A	A	B	-
*OSR18	B	A	B	B	A	A	B	A	B	B	A	A	A	B	B	-
*RM154	B	B	B	B	A	B	A	A	B	A	A	A	A	B	A	-
*RM5919	B	A	A	A	B	B	B	B	A	B	B	A	B	B	-	A
*RM7049	B	A	B	B	A	A	B	-	A	B	A	A	A	-	A	B
*RM7364	A	A	A	A	A	A	B	A	A	-	B	B	A	-	-	B
*RM7364	B	B	-	B	A	A	A	B	B	A	A	A	A	B	A	A

*RM7501	A	B	B	A	B	A	A	B	B	A	B	B	B	A	B	-
*RM7210	B	A	A	A	B	A	A	A	B	B	A	A	-	A	B	B
*RM7208	A	B	B	B	A	B	B	B	A	A	B	B	B	A	A	B
*RM7074	B	B	B	B	B	B	-	A	-	-	-	A	-	B	B	B
*RM11	B	B	A	B	A	B	A	A	B	B	A	A	A	B	B	A
*RM21	-	A	A	B	A	-	-	A	A	B	A	A	B	B	B	A
*RM31	A	A	A	A	B	B	B	B	A	A	-	A	A	A	B	A
*RM103	B	B	B	B	-	A	B	B	A	A	A	A	A	A	B	B
*RM152	B	-	B	B	B	A	A	B	A	B	A	A	B	B	A	B
*RM201	B	B	B	B	A	B	B	B	B	A	A	A	A	A	A	B
*RM206	A	A	A	B	A	B	A	A	B	A	A	B	B	B	B	B
*RM207	B	A	B	B	A	A	A	B	B	A	A	A	B	A	B	B
*RM210	B	B	B	B	B	-	-	B	B	A	B	B	A	B	B	A
*RM222	B	B	-	A	A	A	B	A	B	A	B	A	B	A	A	B
*RM229	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A	B	A	A	A	B
*RM231	A	A	B	A	A	A	B	B	A	A	A	B	B	-	A	B
*RM234	B	A	A	B	A	B	B	B	B	B	A	B	A	B	A	A
*RM283	B	B	A	A	-	B	B	A	B	A	A	-	-	B	A	B
*RM284	B	A	B	B	A	A	B	B	A	B	A	A	A	B	A	B
*RM315	A	B	A	A	A	B	A	A	B	A	B	B	A	B	A	A
*RM316	A	B	B	B	A	A	A	B	A	B	B	B	A	B	-	A
*RM408	B	A	B	B	B	A	-	B	A	B	A	A	B	B	A	B
*RM420	B	A	A	-	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A
*RM431	A	B	A	A	A	B	A	A	A	A	A	B	A	B	B	A
*RM481	A	B	A	B	B	A	B	A	A	B	A	B	A	-	B	B
*RM445	A	B	A	A	A	A	B	-	B	-	B	A	A	-	A	B
*RM560	B	B	A	B	A	B	A	A	B	B	A	A	A	B	B	A
*RM574	A	A	B	B	A	B	B	A	A	B	A	A	B	B	A	A
*RM1164	B	A	A	-	A	B	-	B	A	B	A	B	A	A	A	A

*RM1937	B	A	A	B	B	B	B	B	A	A	B	A	A	A	B	A
*RM3370	B	A	A	A	B	A	B	B	A	B	B	B	A	B	A	A
*RM3461	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	B	-	B	B
*RM5349	A	A	A	A	A	-	A	A	-	A	A	B	A	B	-	A
*RM5638	-	B	B	B	B	A	A	A	B	A	B	B	A	A	B	-
*RM7076	B	B	B	B	A	A	A	A	B	A	A	B	A	B	A	A
*RM7110	B	B	B	B	B	B	A	A	B	B	B	A	B	B	B	B
*RM7124	A	B	B	B	A	A	B	A	B	A	A	-	B	A	A	B
*RM7200	A	A	-	B	B	B	-	B	A	B	B	B	A	A	A	A
*RM7226	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	B	A	A	-	-	B
*RM7269	A	B	A	B	B	B	A	B	A	A	B	B	B	A	A	B
*RM7391	A	-	A	A	A	A	B	A	A	A	B	A	A	B	A	B
*RM7423	A	A	A	A	B	B	B	B	A	A	A	-	A	A	B	A
*RM7504	A	A	-	B	A	A	A	B	A	B	B	B	A	A	A	A
*RM7511	B	B	B	B	B	A	A	A	A	A	B	A	B	A	-	B
*OG10	A	B	B	B	A	A	A	B	A	-	-	-	A	B	B	A
*OSR28	B	B	-	B	A	B	B	B	B	A	A	A	A	A	A	B
*OSR14	B	B	B	B	A	B	-	A	B	A	A	A	A	B	A	A
*OSR34	B	B	B	B	B	A	A	B	A	B	A	A	B	B	A	B
*RM505	B	B	A	B	A	B	B	B	B	B	A	B	-	B	A	A
*OSR22	B	B	A	B	A	B	A	A	B	B	A	A	A	B	B	A
*RM336	B	B	A	B	A	B	A	B	B	B	A	A	-	B	B	A
*RM473	B	A	A	-	A	B	-	-	A	B	A	B	-	A	A	A
*RM7441	B	A	A	B	A	B	B	B	B	B	A	B	-	B	A	A
*RM10	B	B	A	-	A	B	A	B	B	B	A	A	A	B	B	A
*RM248	B	A	A	B	A	A	A	B	A	B	A	B	A	A	A	A
*RM3555	B	A	A	B	A	B	B	B	A	B	A	B	A	A	A	A
*RM182	B	B	A	A	-	A	A	A	B	B	A	-	A	B	B	A
*RM7283	A	B	A	A	A	A	B	-	A	A	B	A	A	-	A	B

*RM9	A	B	B	B	A	A	-	A	B	A	B	B	A	-	A	B
*RM5414	A	A	-	B	B	B	-	B	A	B	A	A	A	A	A	A
*OG66	A	A	B	A	B	A	A	A	A	B	B	B	B	B	-	B
*RM7446	A	A	A	B	A	A	B	B	B	B	B	A	B	B	-	B
*OSR15	B	B	B	B	A	A	B	B	A	A	A	B	B	A	A	B
*RM7652	B	A	B	A	A	B	A	B	-	B	A	A	A	B	A	A
*RM38	B	A	B	B	B	A	B	B	B	B	A	A	A	A	A	-
*RM300	B	A	A	B	A	A	B	A	A	B	A	A	-	A	A	-
*OG7	A	A	-	A	A	A	B	A	A	-	A	B	A	-	-	B
*RM209	A	A	A	A	A	A	B	A	A	B	A	B	A	B	B	B
*RM411	B	A	-	B	B	-	B	B	A	B	A	B	A	A	A	A
*RM7279	A	A	A	B	A	A	A	B	A	B	B	B	A	A	A	A
*RM22	A	A	B	A	A	A	B	B	A	A	A	B	B	A	A	B
*RM3412	A	A	B	-	B	A	A	A	A	A	B	B	A	-	A	B
*F4	B	A	B	A	A	A	B	B	B	B	A	B	B	A	A	B
*G3	B	B	B	B	A	A	B	B	A	A	A	A	A	A	B	B
*C4	A	A	A	B	A	A	B	B	B	B	B	A	-	B	A	B
*OG81	A	B	A	B	A	B	A	B	B	A	A	A	-	A	A	A
*RM220	B	B	A	A	A	B	B	A	B	A	A	B	B	B	A	B
*RM437	A	A	-	B	A	A	A	B	A	B	B	B	A	A	A	A
*RM484	B	A	B	B	A	B	B	B	-	B	B	B	B	A	B	B
*RM500	B	B	B	B	B	B	A	A	B	B	B	A	-	B	B	B
*RM7215	B	A	A	A	A	A	B	B	A	B	A	A	A	B	A	A
*RM7389	B	B	B	B	A	A	B	B	B	A	B	-	-	-	-	A
*RM1261	B	A	A	A	A	B	B	A	A	B	B	-	B	B	A	B
*I3	B	B	B	B	A	A	B	-	B	B	-	A	B	A	-	B
*L2	B	A	-	A	-	A	B	B	A	B	B	-	A	-	A	-

Anexo 4. Valores fenotípicos de linhagens RILs para tolerância ao frio em condições de campo

	PTP	PPP	KgPPP	KgPTP	NGC	PGC	NGV	PGV	VP
249	43,56	40,28	216,6	238,4	101,7	2561	1138	5,41	58,09
250	26,34	21,82	117,9	128,8	178,3	4,69	1241	4,602	53,58
251	183	169,4	941,2	1021	509,6	14,3	778,6	4,381	54,5
253	78,67	71,58	395,8	-	135,8	3451	1022	4,098	43,59
254	27,63	22,76	124	144,5	115,7	3,73	1209	5,542	69,83
255	38,02	32,63	180,2	198,2	241,2	4592	1554	7,1	79,84
256	34,25	30,16	164,1	173,5	57,22	1876	710,3	4,469	69,74
258	81,85	79,03	1373	443,8	61,59	2,88	1321	5,188	38,24
259	131,2	121,8	676,3	729,4	300,3	9506	1163	5,121	22,88
260	71,83	62,64	345,6	387,2	517,4	15,22	1190	6,623	72,53
261	47,14	40,04	223,6	353,1	186,8	4,81	1263	4,624	71,97
262	176,1	159,5	1049	982,4	538,3	17,16	794,7	4,273	49,57
264	230,3	216,8	1205	1288	484,6	14,83	800,7	3,726	56,05
265	145	133	738,5	806,4	331,7	12,2	904,7	4,881	63,55
266	179,3	166,5	924,8	1092	359,1	13,46	463,7	2,989	76,51
267	75,61	35,6	198,8	301,5	186,9	6067	1106	4,466	74,48
269	87,46	61,44	339,4	482,4	137,2	4235	1250	5,869	67,54
272	293,6	279,4	1428	1542	657,3	23,71	588,5	3,758	73,24
274	76,97	68,75	380,6	423,4	273,3	7646	1513	6,349	61,89
275	57,37	52,46	293,2	308,6	151,3	4257	1283	5,653	80,84
276	79,02	62,95	351,8	431,3	501,3	13,47	781,9	4,624	52,7
279	70,05	63,48	351,3	384,1	129,6	5931	1443	6,53	63,54
280	132,9	123,6	681,7	670	399,2	11,34	1445	6,001	70,97
281	87,25	81,91	453,3	474,7	133,3	4,09	1075	5,15	70,05
283	39,63	35,4	194,7	212,2	128,2	3253	982,9	4,723	69,73
284	199,3	174,8	971,6	1113	433,9	12,43	1069	4,904	61,65
285	99,19	93,21	520,5	546	165,7	4,76	1117	5,293	62,48
286	164,4	151,8	759,3	916,3	453,8	13,08	1166	6,312	68,39
287	161,8	144,6	803,1	898,2	644,5	17,74	831	4,738	58,32
288	126,4	109,8	608,8	702,3	656,4	16,58	929,8	4,571	80,49
291	143,4	131,7	731,4	798	305,2	8648	1214	5,624	86,13
293	149,4	160,4	887,1	831,6	539,3	12,48	1136	5,475	36,2
295	282,7	272	1515	1585	478,7	13,14	734,4	3,375	75,16
296	26,92	25	133,7	138,8	67,34	1677	1155	4,22	62,44
297	331,3	271,7	1508	1587	553,9	15,95	671	2,897	60,55
298	118,4	113,6	586,9	656,8	511,4	15,74	752,9	3,571	62,83
299	63,56	55,68	274,1	347,3	248,9	8836	1278	6,454	59,67
300	50,19	46,65	329	348,9	41,17	1771	976,6	4,656	34,71
301	118,3	169,2	607,3	1001	511,9	14,73	945,4	5,144	78,04
302	22,32	14,06	78,26	114,2	36,67	1036	833,6	3,832	77,93

304	144,1	133,4	740,8	801,6	319,4	10,9	840,3	4,032	72,33
305	22,59	20,08	105,9	112,6	45,02	1349	958,2	3,908	21,33
307	173,7	167,9	932,8	968,6	231,9	6538	724,8	5,193	50,02
312	128,8	122,8	600,7	471,8	248,3	6819	1415	7,388	56,66
316	25,7	22,63	168,3	125	316,3	-	1404	5,632	66,78
317	32,45	28,66	156,6	171,6	35,95	1174	1193	5,234	76,78
318	53,68	45,44	253,6	287,2	321,2	9821	881,2	4,65	45,68
319	204	161	1040	1140	488,5	17,83	1111	5,071	71,53
322	152,6	135	753,5	849,5	642,8	17,13	837,6	4,758	-
324	56,45	46,05	257	302,9	63,96	1914	1055	5,211	75,19
325	108,6	77,05	471	601,4	214,8	9099	1103	4,963	76,03
326	190,1	171,5	957,5	1062	606,5	16,71	1067	5,115	36,11
327	192,8	178,8	994,2	1074	495,3	8624	1456	6,574	43,39
328	26,02	23,87	129,9	122,6	44,38	1418	1304	6,322	71,5
330	118,6	104,7	462,4	543,6	338,5	13,68	1032	5,217	55,63
331	135,7	123,6	685,9	754,2	445,5	12,21	928,8	4,691	68,24
332	70,82	59,77	330	388,3	338,5	11,8	1212	5,609	34,56
333	142,2	137,8	765,3	790,6	140	4699	1265	6,141	58,14
335	30	26,01	145	152,5	31,33	1,18	1197	5,094	48,91
336	46,59	41,3	227	286,7	228,9	5559	1438	5,454	59,55
338	156,1	143	661,1	739,2	411,7	13,51	1127	5,352	73,87
339	48,82	40,38	220,8	342,2	274,9	6,52	1142	5,086	75,12
340	265,6	248,1	1269	1487	713,5	19,11	796,8	4,691	73,25
343	141,3	134,4	746,6	785,8	254	7119	908,9	4,376	61,04
344	291,2	277,2	1392	1466	488,4	16,01	1043	5,925	40,51
353	29,16	24,63	133,1	137,4	62,68	1,63	1258	5,109	67,93
354	22,57	19,8	107,3	115,8	75,52	2154	1072	4,545	66,41
360	24,76	23,34	126	129,3	38,95	-	1426	6,281	54,87
364	100,5	87,76	-	-	622,6	19,43	663,8	4,551	75,96
365	95,51	88,54	490	521,3	180,3	5953	1143	5,548	78,85
367	280,3	265,9	1479	1570	589,3	16,26	1042	4,828	24,9
368	38,64	36,7	196,3	206,8	52,4	1235	1299	5,524	78,88
372	168,3	157,2	869,4	946,1	460,6	13,33	778,6	4,352	38,81
375	108,1	94,76	524,3	592,7	499	12,5	899,1	4,276	65,1
377	25,76	21,57	120,2	128,7	48,89	1644	1099	5,667	63,12
378	209,4	194,5	1081	1170	687,8	17,55	1192	4,288	63,97
379	60,2	55,48	306,4	328,3	105,5	3986	1078	5,492	56,42
381	169,4	174,8	888,2	944,1	302,8	10,12	1089	5,226	60,39
382	250,3	240,2	1333	1412	514,1	11,11	906	5,252	71,24
384	149,8	134,6	743,2	840,5	600,2	17,26	1076	4,177	45,97
386	231,4	177,2	985,6	1062	564,5	14,72	919,8	3,685	67,05
387	78,04	80,46	410,6	428,9	126,3	3338	1350	5,963	64,35
388	410,7	396,2	2204	2324	737	20,58	820,3	4,394	81,25
389	96,44	99,26	466,8	532,7	421	11,71	1318	5,249	69,07

390	217,8	208,3	1154	1227	449,8	12,64	752,3	3,548	69,13
391	78,78	73,32	405,5	433,1	155,8	4958	855,7	4,7	74,37
392	151,7	141,1	784	782,1	441,4	10,91	981,7	4,13	56,85
394	96,68	92,61	510,6	538,9	70,11	2191	1095	4,788	51,43
395	154,3	164,9	912,8	998,5	454,1	13,66	1089	4,858	71,69
396	217,7	206,4	1152	1219	409,7	12,19	1146	4,735	71,74
397	198,2	199,9	1064	1107	259,8	7845	1110	5,083	45,36
398	55,3	48	360,3	293,4	170,8	5528	1449	6,319	69,47
399	36,42	31,81	151,8	181,2	18,15	0,7535	1441	5,869	69,07
400	221,3	255,8	1424	1492	475,3	11,44	909,9	3,282	61,05
401	131,4	137,9	685,6	806,7	281,2	11,32	1059	5,03	72,13
404	25,78	23,28	126,9	134,2	126	-	1269	5,211	66,12
405	267,9	252	1399	1512	612,4	18,24	1062	4,507	67,51
406	58,21	53,77	296,8	372,4	152,3	3695	1161	5,732	68,6
407	247,5	226,1	1127	1577	589,9	14,58	828,4	4,258	74,53
410	229,3	251,5	1224	1473	264	12,6	1074	5,819	75,05
411	100,2	82,56	496,8	554	361,5	10,25	720,6	3,288	67,21
412	137,3	134,3	697,2	763,2	368,3	11,79	943,4	5,059	57,17
413	185	150,4	962,8	-	536,3	12,5	1224	4,679	66,62
414	94,34	78,01	493,3	465,6	156,1	5047	902,5	4,79	66,14
415	73,43	66,95	369,5	395,7	171,5	4902	1025	4,758	66,35
416	104,1	84,51	484,8	575,9	223,8	5341	1007	4,703	60,01
417	163,7	165,7	822,8	911,8	481,5	15,98	1230	5,948	67,88
418	76,74	83,43	400,6	421,5	174,2	5256	1165	5,016	76,17
419	75,87	54,86	395,1	326,2	169,3	3964	1307	6,436	46,92
421	45,27	47,68	236	265,8	50,16	2023	1526	6,413	64,83
422	69,64	92,57	652,6	377,6	259,2	6942	810,1	3,644	47,4
423	95,62	77,06	492,9	528,2	242,5	7811	1740	6,553	68,28
424	44,58	35,82	218,4	232,1	108,9	3869	1103	6,711	76,13
425	49,62	44,46	245,1	268,7	79,93	4286	1223	6,322	35,87
426	57,28	52,92	291,9	311,9	69,63	5028	1137	4,799	75,64
427	61,52	51,9	286,1	335,7	448	11,26	1194	6,039	79,43
429	238,7	217,7	1215	1335	786,7	21,13	623	3,791	69,96
430	153	121,8	671,7	851,9	316	8827	1127	5,062	53,54
431	268,2	267,7	1214	1725	552,3	15,23	1084	3,81	40,35
432	47,91	40,37	222,2	311,9	114,5	3394	971,5	5,164	64,7
433	60,01	56,83	313,8	327,7	86,44	2486	1119	4,609	77,98
434	309,6	320	1481	1735	666,6	18,02	878,7	4,72	68,21
435	159,1	149,8	828	893,8	445,7	12,44	670,1	2,939	68,19
436	134,4	125,3	699,7	745,8	273,1	8444	857,5	4,293	27,37
437	155,5	107,8	602	664,9	654,2	18,61	896,8	4,241	68,19
438	24,99	23,17	124,6	132,1	54	-	1312	5,208	48,35
439	236,7	188	1050	1116	439,3	13,59	865,4	4,203	52,34
440	188,4	178	989,3	-	389,9	11,21	1093	5,463	58,24

441	34,68	24,82	140,7	178,4	466,3	12,82	983,9	4,358	76,33
444	234,6	219,5	1221	1312	527,6	16,43	1209	5,784	45,43
446	43,28	38,09	209,2	232,6	57,23	1604	1040	4,84	70,69

Anexo 5. Valores médios de Crescimento de Raiz das linhagens RILs para tolerância ao frio em condições controladas

Linhagem	CP-Raiz		CP-Raiz		CP-Raiz		CP-Raiz		CP-Raiz	
	Comp		ArPr		ArSu		DiaM		Vol	
	Estresse	Controle	Estresse	Controle	Estresse	Controle	Estresse	Controle	Estresse	Controle
Amaroo	14,753	30,093	0,951	1,597	2,987	5,017	0,646	0,534	0,071	0,081
Chorinho	15,740	47,116	1,149	2,604	3,611	8,180	0,734	0,551	0,097	0,131
249	24,585	51,539	1,695	2,907	5,326	9,134	0,689	0,569	0,119	0,155
250	15,231	39,826	1,294	2,198	4,066	6,903	0,846	0,563	0,112	0,121
251	17,912	47,485	1,539	3,002	4,836	9,432	0,861	0,639	0,134	0,172
253	12,222	33,148	1,003	2,124	3,149	6,673	0,845	0,648	0,079	0,144
254	16,180	39,110	1,212	2,175	3,806	6,834	0,774	0,567	0,090	0,115
255	22,297	54,568	1,692	3,125	5,316	9,817	0,764	0,576	0,122	0,166
256	23,880	66,077	1,821	3,305	5,719	10,383	0,772	0,505	0,156	0,154
258	26,284	64,382	1,768	3,387	5,555	10,642	0,707	0,527	0,114	0,164
259	10,154	26,194	0,731	1,479	2,295	4,648	0,764	0,568	0,064	0,080
260	14,270	45,388	1,197	2,626	3,760	8,249	0,846	0,585	0,108	0,145
261	18,197	52,651	1,274	2,728	4,002	8,570	0,707	0,520	0,083	0,141
262	15,231	43,250	1,216	2,608	3,820	8,194	0,793	0,613	0,095	0,147
264	15,766	46,292	1,232	2,531	3,872	7,950	0,797	0,564	0,107	0,133
265	16,795	55,663	1,373	3,008	4,313	9,450	0,815	0,550	0,123	0,146
266	12,939	26,007	1,086	1,728	3,411	5,427	0,845	0,669	0,099	0,122
268	4,919	30,636	0,634	2,096	1,993	6,586	0,964	0,699	0,113	0,162
269	10,302	32,072	0,875	1,988	2,748	6,246	0,885	0,631	0,083	0,121
272	21,653	60,622	1,451	3,170	4,556	9,960	0,670	0,524	0,094	0,148
274	28,689	70,969	2,171	3,721	6,820	11,689	0,757	0,523	0,163	0,179
275	14,688	43,623	1,313	2,678	4,127	8,412	0,899	0,619	0,120	0,164
276	10,995	29,213	0,998	1,827	3,134	5,739	0,915	0,631	0,095	0,114
279	11,187	26,739	0,982	1,868	3,085	5,868	0,888	0,703	0,101	0,144
280	17,955	42,030	1,477	2,439	4,641	7,663	0,824	0,609	0,122	0,143
281	11,779	21,295	1,030	1,443	3,237	4,534	0,888	0,683	0,103	0,098
282	26,110	25,573	2,049	1,808	6,436	5,679	0,841	0,737	0,167	0,124
283	11,124	29,943	0,942	1,783	2,958	5,601	0,860	0,607	0,082	0,108
284	26,069	59,117	1,836	2,876	5,766	9,036	0,705	0,501	0,125	0,141
285	12,651	37,781	0,943	2,205	2,962	6,926	0,737	0,589	0,067	0,119
286	15,488	40,854	1,264	2,586	3,972	8,124	0,811	0,635	0,105	0,160
287	19,467	39,923	1,438	2,333	4,517	7,330	0,744	0,582	0,105	0,124
288	11,847	25,085	0,855	1,392	2,685	4,373	0,721	0,562	0,056	0,072
290	19,600	51,066	1,462	2,817	4,594	8,848	0,764	0,552	0,105	0,145
291	17,899	48,483	1,458	2,816	4,580	8,846	0,833	0,581	0,128	0,148
292	24,272	50,353	1,611	2,654	5,062	8,338	0,667	0,526	0,101	0,127
293	20,434	57,029	1,315	2,760	4,131	8,670	0,642	0,486	0,085	0,131
294	14,565	50,475	0,991	2,695	3,114	8,466	0,679	0,534	0,076	0,140

295	11,309	27,660	0,885	1,781	2,782	5,594	0,764	0,652	0,077	0,109
296	19,427	58,578	1,475	3,284	4,633	10,316	0,760	0,562	0,111	0,174
297	28,257	51,364	1,915	2,707	6,015	8,504	0,680	0,558	0,130	0,139
298	22,448	38,029	1,725	2,446	5,420	7,684	0,770	0,654	0,123	0,152
299	23,718	68,139	1,761	3,964	5,534	12,454	0,708	0,584	0,123	0,212
300	17,109	35,294	1,121	1,804	3,522	5,668	0,658	0,521	0,065	0,085
301	24,272	72,912	1,569	3,700	4,928	11,622	0,726	0,516	0,114	0,170
302	22,809	72,813	1,901	4,063	5,971	12,764	0,839	0,557	0,164	0,207
304	17,036	37,209	1,319	2,153	4,142	6,764	0,774	0,577	0,102	0,113
305	28,645	66,573	1,822	3,560	5,723	11,183	0,629	0,533	0,105	0,178
306	25,584	63,620	1,873	3,413	5,883	10,723	0,729	0,533	0,140	0,174
307	17,024	45,814	1,304	2,746	4,095	8,628	0,766	0,619	0,105	0,161
312	18,089	46,230	1,306	2,575	4,102	8,088	0,736	0,530	0,091	0,138
316	17,324	58,790	1,411	3,454	4,431	10,850	0,841	0,595	0,113	0,190
317	20,775	55,154	1,610	3,323	5,057	10,439	0,779	0,603	0,127	0,180
318	16,316	36,979	1,376	2,346	4,324	7,369	0,834	0,649	0,125	0,150
319	21,094	64,514	1,672	3,560	5,253	11,185	0,789	0,550	0,157	0,184
321	24,520	64,601	1,725	3,320	5,419	10,429	0,703	0,517	0,125	0,158
322	17,286	49,531	1,343	3,073	4,218	9,653	0,785	0,627	0,122	0,177
325	15,342	53,285	1,362	3,207	4,280	10,075	0,890	0,602	0,115	0,180
326	32,487	98,581	2,247	4,695	7,059	14,749	0,703	0,487	0,147	0,202
327	25,313	64,284	1,982	3,529	6,228	11,086	0,838	0,553	0,157	0,177
328	17,106	36,303	1,062	2,034	3,337	6,390	0,621	0,557	0,062	0,108
330	12,717	40,902	0,980	2,588	3,080	8,132	0,786	0,642	0,079	0,161
331	21,035	55,270	1,775	3,300	5,576	10,366	0,841	0,599	0,167	0,194
332	18,388	56,997	1,325	2,871	4,162	9,019	0,725	0,509	0,104	0,138
333	23,905	86,197	1,796	4,317	5,642	13,562	0,755	0,502	0,129	0,200
334	21,236	61,728	1,519	3,194	4,771	10,034	0,716	0,529	0,112	0,146
336	20,346	52,701	1,500	2,984	4,712	9,375	0,746	0,571	0,129	0,164
338	14,741	42,916	0,885	2,487	3,723	7,814	0,815	0,594	0,111	0,135
339	21,623	54,326	1,751	3,032	5,501	9,526	0,808	0,567	0,146	0,166
340	17,296	29,656	1,305	1,777	4,098	5,582	0,757	0,600	0,097	0,111
341	22,552	65,141	1,657	3,602	5,205	11,317	0,738	0,552	0,126	0,178
343	20,217	55,528	1,456	3,109	4,573	9,766	0,724	0,564	0,100	0,160
344	27,911	55,473	1,804	2,826	5,668	8,878	0,666	0,506	0,110	0,129
345	15,702	30,210	1,136	1,661	3,568	5,217	0,727	0,559	0,079	0,088
346	14,613	43,864	1,231	2,699	3,868	8,480	0,844	0,617	0,100	0,162
348	13,492	45,194	1,078	2,766	3,387	8,691	0,822	0,687	0,085	0,168
350	23,628	48,326	1,630	2,761	5,122	8,675	0,692	0,572	0,111	0,151
351	22,537	40,673	1,499	2,081	4,710	6,538	0,664	0,518	0,095	0,104
352	10,323	27,006	0,851	1,688	2,675	5,303	0,801	0,625	0,087	0,110
353	14,404	30,101	1,100	1,778	3,455	5,586	0,767	0,591	0,078	0,103
354	21,502	53,638	1,451	2,650	4,559	8,324	0,685	0,492	0,097	0,124
355	24,968	61,748	1,718	3,174	5,397	9,971	0,698	0,505	0,124	0,140

356	18,923	36,483	1,321	1,999	4,150	6,281	0,703	0,548	0,096	0,108
357	13,135	31,590	1,099	2,181	3,452	6,852	0,840	0,693	0,106	0,166
360	11,271	45,076	0,881	2,499	2,768	7,851	0,695	0,552	0,066	0,129
361	17,450	38,374	1,392	2,236	4,374	7,024	0,809	0,593	0,129	0,129
362	14,475	34,760	1,003	1,712	3,150	5,378	0,695	0,491	0,078	0,079
364	14,393	27,874	1,176	1,461	3,694	4,590	0,835	0,586	0,100	0,069
365	13,419	37,839	0,943	2,138	2,962	6,716	0,693	0,568	0,065	0,116
367	28,915	69,516	1,864	3,348	5,857	10,519	0,649	0,499	0,121	0,158
368	22,442	58,415	1,383	2,909	4,346	9,138	0,618	0,508	0,082	0,134
369	21,201	54,734	1,564	3,113	4,914	9,781	0,736	0,578	0,120	0,176
372	19,159	45,012	1,549	2,584	4,865	8,117	0,811	0,580	0,130	0,133
373	19,712	52,993	1,299	2,495	4,082	7,837	0,663	0,475	0,099	0,103
375	17,526	57,158	1,396	2,965	4,386	9,315	0,804	0,527	0,111	0,143
377	14,428	24,514	1,107	1,416	3,477	4,449	0,787	0,579	0,094	0,081
378	13,227	42,222	1,156	2,515	3,632	7,900	0,867	0,611	0,102	0,143
379	13,818	37,220	0,968	2,143	2,779	6,731	0,715	0,573	0,066	0,115
380	20,906	60,045	1,750	3,171	5,498	9,961	0,847	0,539	0,142	0,163
381	14,447	49,274	1,121	2,585	3,521	8,121	0,786	0,536	0,093	0,132
382	15,222	53,515	1,109	3,111	3,485	9,773	0,741	0,599	0,092	0,169
384	10,104	31,323	0,781	1,921	2,452	6,034	0,769	0,615	0,067	0,109
385	14,470	34,961	1,155	1,985	3,627	6,237	0,818	0,570	0,093	0,111
386	24,386	66,451	1,504	3,224	4,725	10,130	0,616	0,487	0,085	0,146
387	14,416	48,626	0,960	2,761	3,015	8,674	0,670	0,550	0,064	0,152
388	16,387	39,097	1,315	2,373	4,133	7,456	0,800	0,606	0,121	0,144
390	20,141	37,055	1,482	2,115	4,655	6,645	0,736	0,572	0,113	0,119
391	23,654	47,223	1,864	2,787	5,856	8,756	0,785	0,593	0,160	0,157
392	16,412	49,781	1,275	2,848	4,004	8,947	0,773	0,578	0,108	0,158
393	10,463	36,346	0,672	2,065	2,110	6,487	0,686	0,572	0,041	0,122
394	28,111	66,035	1,737	3,484	5,456	10,946	0,710	0,529	0,104	0,167
395	14,865	44,341	1,302	2,731	4,091	8,579	0,876	0,613	0,122	0,168
396	18,091	48,612	1,704	2,974	5,353	9,342	0,942	0,619	0,167	0,172
397	19,547	56,036	1,598	3,612	5,020	11,347	0,823	0,644	0,131	0,227
398	14,971	46,326	1,214	2,672	3,814	8,394	0,821	0,598	0,105	0,144
399	21,860	68,984	1,561	3,611	4,902	11,345	0,716	0,524	0,114	0,164
400	17,045	69,632	1,140	3,543	3,582	11,132	0,663	0,518	0,067	0,167
401	8,813	33,297	0,733	2,023	2,303	6,354	0,888	0,613	0,057	0,112
404	16,480	39,720	1,337	2,443	4,201	7,676	0,813	0,619	0,105	0,151
405	25,513	73,220	1,789	3,546	5,621	11,139	0,706	0,490	0,120	0,159
406	22,506	55,210	1,848	3,612	5,807	11,348	0,821	0,653	0,145	0,221
407	19,382	60,329	1,428	3,181	4,484	9,993	0,738	0,537	0,108	0,155
410	20,925	73,226	1,584	3,725	4,978	11,701	0,755	0,510	0,129	0,179
411	16,981	62,529	1,248	3,676	3,920	11,547	0,735	0,594	0,096	0,197
413	14,436	39,358	1,299	2,167	4,082	6,808	0,846	0,562	0,107	0,115
415	23,351	59,873	1,595	3,197	5,012	10,043	0,681	0,540	0,111	0,165

416	22,996	53,718	1,749	2,907	5,494	9,134	0,764	0,545	0,142	0,151
417	20,291	40,077	1,515	2,382	4,761	7,483	0,751	0,600	0,109	0,146
418	11,554	21,975	0,869	1,308	2,730	4,109	0,753	0,593	0,073	0,073
419	21,480	38,452	1,439	2,042	4,521	6,414	0,668	0,528	0,092	0,108
421	20,543	44,211	1,524	2,513	4,789	7,896	0,734	0,568	0,117	0,137
422	24,994	76,034	1,657	3,694	5,205	11,605	0,667	0,500	0,110	0,169
423	15,863	42,618	1,210	2,463	3,800	7,738	0,759	0,579	0,088	0,130
424	21,786	33,754	1,504	2,026	4,725	6,365	0,750	0,606	0,101	0,120
425	18,136	55,334	1,494	3,053	4,693	9,590	0,816	0,558	0,128	0,165

CP-raiz – Crescimento de Plântula – Raiz

Anexo 6. Valores médios de Crescimento de Parte Aérea das linhagens RILs para tolerância ao frio em condições controladas

Linhagem	CP-PA		CP-PA		CP-PA		CP-PA		CP-PA	
	Comp		ArPr		ArSu		DiaM		Vol	
	Estresse	Controle	Estresse	Controle	Estresse	Controle	Estresse	Controle	Estresse	Controle
Amaroo	11,067	24,800	1,413	2,360	4,439	7,414	1,302	0,953	0,176	0,208
Chorinho	11,289	25,061	1,558	2,570	4,895	8,074	1,385	1,025	0,192	0,238
249	14,942	29,437	1,984	3,531	6,231	11,092	1,330	1,199	0,267	0,358
250	9,091	21,379	1,499	2,351	4,710	7,384	1,727	1,100	0,224	0,238
251	8,811	23,450	1,344	2,983	4,224	9,371	1,568	1,265	0,234	0,334
253	8,610	21,670	1,465	2,549	4,603	8,009	1,787	1,194	0,247	0,288
254	10,308	22,359	1,475	2,324	4,633	7,300	1,446	1,060	0,222	0,216
255	12,804	25,156	1,753	2,862	5,506	8,992	1,392	1,137	0,238	0,295
256	15,859	30,310	1,991	3,415	6,255	10,729	1,304	1,126	0,266	0,332
258	11,722	27,661	1,572	3,143	4,939	9,874	1,420	1,135	0,229	0,304
259	8,811	18,519	1,479	2,034	4,645	6,389	1,703	1,100	0,236	0,213
260	9,310	24,999	1,527	2,697	4,797	8,471	1,666	1,080	0,352	0,286
261	10,982	26,694	1,565	2,670	4,917	8,388	1,440	0,998	0,228	0,246
262	8,922	23,526	1,502	2,836	4,719	8,910	1,722	1,210	0,281	0,311
264	8,976	22,438	1,506	2,489	4,732	7,821	1,745	1,113	0,255	0,263
265	11,405	24,689	1,659	2,783	5,212	8,743	1,481	1,129	0,262	0,273
266	7,611	14,833	1,459	1,974	4,582	6,202	1,938	1,334	0,285	0,249
268	-	21,340	-	2,423	-	7,611	-	1,140	-	0,276
269	7,727	18,240	1,395	2,180	4,382	6,849	1,837	1,193	0,227	0,247
272	12,770	26,980	1,691	2,656	5,311	8,345	1,338	0,985	0,223	0,227
274	16,237	31,549	1,900	3,569	5,968	11,211	1,174	1,129	0,232	0,328
275	9,860	26,487	1,868	3,409	5,869	10,709	1,916	1,290	0,389	0,387
276	9,065	19,860	1,620	2,281	5,088	7,166	1,806	1,153	0,322	0,260
279	9,630	23,676	1,608	2,522	5,052	7,924	1,693	1,072	0,242	0,273
280	10,974	23,870	1,626	2,889	5,107	9,077	1,486	1,203	0,242	0,304
281	9,716	18,227	1,544	2,409	4,849	7,569	1,632	1,324	0,237	0,301
282	11,249	22,066	1,643	2,358	5,161	7,406	1,514	1,033	0,242	0,212
283	8,459	21,271	1,423	2,295	4,470	7,210	1,690	1,081	0,250	0,240
284	14,287	23,332	1,815	2,781	5,701	8,737	1,276	1,189	0,216	0,288
285	10,630	22,010	1,497	2,377	4,702	7,468	1,408	1,082	0,216	0,239
286	12,805	23,660	1,692	2,550	5,317	8,009	1,327	1,081	0,233	0,246
287	13,337	24,705	1,772	2,617	5,566	8,220	1,343	1,059	0,234	0,244
290	15,368	32,668	1,923	3,593	6,042	11,286	1,308	1,098	0,255	0,329
291	13,168	23,541	1,820	2,682	5,717	8,426	1,396	1,138	0,285	0,265
292	15,578	31,037	1,889	2,951	5,935	9,270	1,218	0,953	0,304	0,250
293	11,659	25,693	1,464	2,543	4,598	7,989	1,256	0,990	0,198	0,224
294	8,527	23,282	1,406	2,322	4,419	7,294	1,662	3229,012	0,225	0,215
295	9,687	21,303	1,547	2,468	4,861	7,752	1,622	1,161	0,280	0,281
296	11,168	26,052	1,643	3,107	5,161	9,763	1,506	1,192	0,243	0,325

297	14,274	24,538	1,745	2,995	5,483	9,409	1,228	1,228	0,218	0,314
298	14,424	24,428	1,920	2,528	6,033	7,940	1,337	1,035	0,281	0,249
299	15,494	33,484	1,908	3,707	5,995	11,647	1,237	1,105	0,248	0,346
300	10,966	26,013	1,408	2,493	4,423	7,831	1,338	0,967	0,178	0,205
301	13,961	31,947	1,961	3,653	6,159	11,477	1,321	1,145	0,267	0,350
302	14,759	32,048	1,883	3,762	5,916	11,820	1,286	1,172	0,245	0,367
304	13,409	24,020	1,546	2,348	4,855	7,378	1,155	0,977	0,174	0,211
305	12,825	28,799	1,774	2,859	5,574	8,981	1,383	0,992	0,228	0,259
306	13,636	24,150	1,732	3,060	5,441	9,613	1,279	1,261	0,221	0,323
307	14,599	29,071	2,024	3,317	6,360	10,421	1,427	1,139	0,303	0,320
312	11,727	23,744	1,621	2,448	5,093	7,690	1,390	0,991	0,212	0,225
316	13,694	29,270	1,995	3,323	6,266	10,440	1,507	1,132	0,340	0,329
317	14,781	29,808	1,856	3,295	5,832	10,350	1,264	1,105	0,228	0,315
318	9,072	18,568	1,483	2,332	4,659	7,326	1,638	1,273	0,246	0,286
319	11,297	30,044	1,663	3,233	5,225	10,156	1,484	1,073	0,275	0,309
321	13,132	29,191	1,809	3,280	5,684	10,304	1,398	1,119	0,272	0,318
322	11,292	24,285	1,798	2,728	5,648	8,571	1,604	1,125	0,289	0,265
325	13,160	21,952	1,979	3,354	6,217	10,538	1,548	1,540	0,302	0,427
326	13,941	28,991	1,980	3,676	6,219	11,548	1,429	1,265	0,317	0,383
327	14,653	34,960	1,903	3,900	5,980	12,252	1,287	1,116	0,236	0,370
328	14,513	31,723	1,822	3,038	5,723	9,543	1,279	0,903	0,224	0,258
330	9,756	23,488	1,623	2,520	5,098	7,918	1,677	1,076	0,334	0,254
331	11,685	26,973	1,661	2,942	5,217	9,242	1,422	1,090	0,252	0,281
332	10,733	24,712	1,489	2,646	4,678	8,313	1,439	1,075	0,211	0,250
333	12,271	33,373	1,756	4,110	5,517	12,911	1,434	1,228	0,252	0,427
334	12,597	25,808	1,525	2,434	4,790	7,645	1,218	0,939	0,193	0,201
336	9,256	21,841	1,432	2,331	4,499	7,324	1,569	1,068	0,221	0,228
338	9,745	22,057	1,536	2,562	4,826	8,049	1,608	1,164	0,230	0,257
339	12,893	24,237	1,786	2,792	5,611	8,772	1,389	1,146	0,263	0,284
340	9,602	21,993	1,500	2,253	4,712	7,080	1,566	1,026	0,218	0,213
341	14,125	32,265	1,781	3,247	5,596	10,200	1,268	1,008	0,225	0,291
343	12,846	21,757	1,771	2,662	5,565	8,362	1,414	1,226	0,246	0,285
344	16,125	29,459	1,991	2,993	6,254	9,401	1,219	1,014	0,265	0,258
345	8,862	18,990	1,474	2,084	4,631	6,545	1,666	1,097	0,235	0,218
346	10,438	25,546	1,664	3,015	5,227	9,473	1,593	1,178	0,243	0,306
348	11,997	27,078	1,820	3,046	5,716	9,568	1,555	1,238	0,283	0,301
350	12,511	28,771	1,568	3,211	4,927	10,087	1,257	1,109	0,217	0,306
351	9,453	22,064	1,348	2,339	4,235	7,348	1,425	1,060	0,209	0,231
352	7,001	18,738	1,455	2,252	4,572	7,074	1,928	1,206	0,283	0,243
353	9,401	21,537	1,579	2,357	4,960	7,403	1,681	1,098	0,272	0,262
354	13,966	28,919	1,744	3,215	5,480	10,101	1,301	1,107	0,238	0,309
356	10,082	23,001	1,525	2,505	4,792	7,870	1,517	1,091	0,234	0,250
357	10,689	22,934	1,593	2,626	5,004	8,250	1,497	1,151	0,251	0,275
360	12,381	25,352	1,766	2,664	5,549	8,370	1,416	1,051	0,260	0,254

361	11,651	25,117	1,664	2,800	5,228	8,796	1,444	1,116	0,276	0,277
362	8,330	18,927	1,359	2,046	4,271	6,426	1,643	1,082	0,212	0,197
364	10,396	19,933	1,540	2,110	4,839	6,630	1,494	1,143	0,195	0,199
365	9,356	23,925	1,543	2,407	4,847	7,562	1,655	1,007	0,339	0,215
367	13,202	28,853	1,697	3,312	5,331	10,405	1,303	1,150	0,256	0,331
368	13,090	25,711	1,664	2,653	5,228	8,334	1,299	1,028	0,207	0,238
369	12,164	27,298	1,695	2,772	5,326	8,707	1,394	1,014	0,262	0,256
372	12,210	25,403	1,789	2,780	5,620	8,735	1,503	1,094	0,282	0,262
373	10,512	21,644	1,516	2,207	4,762	6,934	1,440	1,017	0,244	0,196
375	11,363	29,495	1,681	3,448	5,280	10,833	1,509	1,178	0,240	0,351
377	9,328	16,663	1,464	1,945	4,599	6,110	1,657	1,168	0,254	0,226
378	9,001	23,605	1,651	2,771	5,187	8,706	1,840	1,183	0,302	0,295
379	8,163	22,244	1,245	2,279	3,912	7,160	1,453	1,026	0,183	0,207
380	12,815	27,147	1,828	3,329	5,742	10,457	1,465	1,227	0,272	0,344
381	9,450	26,175	1,524	2,769	4,789	8,698	1,681	1,063	0,279	0,275
382	9,688	24,089	1,456	2,405	4,575	7,555	1,547	1,001	0,238	0,220
384	9,298	19,462	1,425	2,224	4,477	6,987	1,551	1,145	0,230	0,229
385	10,099	23,122	1,637	2,508	5,141	7,879	1,687	1,085	0,267	0,249
386	14,905	27,292	1,802	3,215	5,661	10,100	1,208	1,178	0,225	0,321
387	14,131	28,029	1,732	2,951	5,440	9,272	1,249	1,051	0,315	0,272
388	14,073	30,509	1,871	2,875	5,876	9,031	1,314	0,895	0,266	0,219
390	10,763	23,824	1,666	2,542	5,232	7,987	1,549	1,071	0,255	0,255
391	12,099	25,887	1,713	2,713	5,381	8,522	1,443	1,049	0,273	0,248
392	11,439	28,916	1,654	2,976	5,196	9,350	1,455	1,029	0,281	0,269
393	10,516	23,120	1,551	2,689	4,874	8,449	1,513	1,163	0,215	0,303
394	12,467	24,771	1,734	3,263	5,448	10,252	1,434	1,319	0,223	0,356
395	11,080	26,415	1,776	3,070	5,579	9,645	1,628	1,161	0,275	0,315
396	10,749	26,213	1,677	2,976	5,269	9,351	1,577	1,130	0,267	0,312
397	10,257	24,395	1,726	3,095	5,421	9,722	1,698	1,268	0,297	0,356
398	10,470	24,328	1,702	2,766	5,349	8,689	1,683	1,139	0,282	0,273
399	12,049	27,630	1,541	3,321	4,842	10,433	1,289	1,202	0,225	0,332
400	13,539	30,089	1,695	3,367	5,324	10,577	1,252	1,116	0,214	0,312
401	10,506	21,617	1,657	2,426	5,207	7,621	1,615	1,135	0,274	0,274
404	12,829	25,054	1,976	2,832	6,208	8,898	1,580	1,133	0,327	0,281
405	15,123	32,177	2,061	3,714	6,476	11,669	1,366	1,155	0,298	0,369
406	14,277	28,101	2,002	3,753	6,290	11,790	1,431	1,339	0,307	0,414
407	12,000	26,434	1,634	2,980	5,134	9,362	1,392	1,121	0,229	0,292
410	13,474	28,695	1,817	3,199	5,710	10,049	1,362	1,114	0,295	0,302
411	12,903	32,446	1,849	3,690	5,808	11,593	1,462	1,133	0,341	0,360
413	-	24,978	-	2,708	-	8,506	-	1,083	-	0,259
415	15,095	28,828	1,950	3,115	6,127	9,785	1,323	1,081	0,261	0,290
416	13,660	25,590	1,859	3,064	5,842	9,625	1,379	1,196	0,261	0,317
417	11,637	27,740	1,569	3,262	4,929	10,249	1,356	1,174	0,215	0,327
419	11,530	20,571	1,625	2,174	5,107	6,831	1,476	1,059	0,230	0,217

421	12,755	24,450	1,729	2,836	5,432	8,910	1,398	1,154	0,258	0,291
422	12,048	27,834	1,650	3,242	5,182	10,185	1,374	1,163	0,224	0,318
423	11,966	26,017	1,830	2,907	5,748	9,133	1,529	1,118	0,333	0,289
424	12,936	24,796	2,156	3,002	6,774	9,432	1,711	1,210	0,399	0,339
425	14,344	29,860	2,094	3,723	6,577	11,695	1,470	1,247	0,330	0,394

CP-PA – Crescimento de Plântula – Parte Aérea

Anexo 7. Valores médios de Recuperação do Crescimento de raiz das linhagens RILs para tolerância ao frio em condições controladas

Linha	RC-raiz		RC-raiz		RC-raiz		RC-raiz		RC-raiz	
	Comp	ArPr	ArSu	DiaM	Vol	Estresse	Controle	Estresse	Controle	
Amaroo	47,417	78,002	2,291	3,825	7,196	12,016	0,535	0,494	0,105	0,173
Chorinho	34,607	56,801	1,718	3,034	5,397	9,532	0,503	0,532	0,080	0,152
249	53,100	147,033	2,707	6,532	8,503	20,520	0,511	0,458	0,130	0,261
250	35,479	92,052	2,027	4,009	6,369	12,596	0,586	0,437	0,119	0,166
251	67,735	113,376	3,924	5,667	12,328	17,803	0,607	0,541	0,213	0,255
253	38,313	83,065	2,426	4,160	7,621	13,069	0,686	0,524	0,146	0,193
254	51,299	108,416	2,771	4,785	8,705	15,032	0,584	0,459	0,146	0,187
255	66,847	131,608	3,630	5,619	11,404	17,653	0,548	0,429	0,183	0,227
256	94,208	165,457	4,786	6,786	15,037	21,320	0,527	0,412	0,217	0,256
258	68,466	165,732	3,447	7,295	10,830	22,918	0,537	0,445	0,162	0,283
259	32,200	70,310	1,752	3,392	5,504	10,657	0,559	0,514	0,089	0,152
260	49,394	99,253	2,873	4,474	9,027	14,056	0,587	0,469	0,166	0,184
261	45,755	117,994	2,554	4,761	8,023	14,958	0,583	0,406	0,129	0,173
262	48,410	119,067	2,785	5,634	8,749	17,700	0,603	0,484	0,145	0,235
264	43,636	63,606	2,449	3,217	7,694	10,105	0,563	0,516	0,127	0,149
265	68,791	148,828	3,515	6,883	11,044	21,625	0,543	0,482	0,155	0,281
266	41,700	105,555	2,447	5,034	7,686	15,815	0,603	0,493	0,136	0,218
268	61,369	131,161	3,402	6,300	10,688	19,791	0,595	0,488	0,178	0,275
269	52,719	66,167	2,963	3,953	9,308	12,419	0,662	0,598	0,166	0,227
272	52,980	95,996	2,905	4,776	9,125	15,005	0,628	0,512	0,149	0,222
274	59,484	118,359	2,885	5,179	9,062	16,271	0,510	0,440	0,126	0,201
275	74,485	131,489	3,859	5,999	12,123	18,845	0,548	0,463	0,187	0,261
276	49,844	103,839	2,944	4,960	9,249	15,581	0,593	0,487	0,168	0,216
279	39,642	87,034	2,359	4,264	7,412	13,396	0,655	0,507	0,136	0,194
280	29,188	102,123	1,937	5,545	6,086	17,422	0,702	0,544	0,127	0,281
281	46,532	107,039	2,939	4,968	9,234	15,607	0,583	0,494	0,167	0,203
282	39,226	90,130	2,144	4,699	6,737	14,761	0,712	0,552	0,112	0,234
283	46,410	90,871	2,811	4,643	8,832	14,585	0,628	0,529	0,164	0,217
284	37,362	65,080	2,305	3,177	7,242	9,982	0,646	0,531	0,135	0,147
285	85,841	122,527	3,950	5,412	12,411	17,003	0,472	0,464	0,164	0,209
286	54,511	82,530	3,161	3,933	9,931	12,355	0,614	0,479	0,164	0,170
287	42,365	111,707	2,841	5,988	8,927	18,812	0,673	0,546	0,197	0,296
288	55,117	94,995	3,123	4,555	9,812	14,309	0,584	0,483	0,158	0,199
290	60,227	103,254	3,186	5,165	10,008	16,227	0,537	0,501	0,154	0,237
291	77,971	61,053	4,356	3,104	13,685	9,751	0,586	0,524	0,224	0,150
292	59,412	120,610	3,090	5,411	9,707	16,997	0,540	0,461	0,143	0,220
293	81,045	122,508	3,521	4,816	11,063	15,129	0,442	0,396	0,137	0,179
294	60,501	116,686	3,012	5,137	9,463	16,139	0,531	0,445	0,140	0,201

295	44,383	96,647	2,593	4,801	8,145	15,083	0,624	0,513	0,138	0,212
296	78,602	134,470	4,448	5,970	13,974	18,755	0,627	0,464	0,232	0,251
297	64,803	138,078	3,193	6,120	10,030	19,225	0,511	0,453	0,151	0,253
298	54,595	131,964	3,176	6,411	9,977	20,140	0,601	0,535	0,166	0,273
299	81,894	169,243	4,602	7,770	14,458	24,411	0,569	0,485	0,226	0,325
300	43,646	105,708	2,017	4,405	6,336	13,838	0,580	0,428	0,082	0,157
301	92,099	124,520	4,287	5,760	13,468	18,096	0,515	0,480	0,193	0,243
302	59,669	140,050	3,410	6,540	10,714	20,546	0,602	0,479	0,173	0,288
304	59,517	89,293	3,166	4,149	9,945	13,035	0,534	0,470	0,149	0,167
305	86,114	132,467	4,298	5,894	13,504	18,517	0,518	0,454	0,188	0,232
306	86,007	146,072	4,610	6,262	14,482	19,673	0,553	0,430	0,219	0,240
307	53,849	111,480	3,073	5,938	9,655	18,654	0,651	0,556	0,156	0,286
312	63,537	101,948	3,672	4,758	11,534	14,950	0,585	0,478	0,189	0,205
316	63,565	155,506	3,549	7,823	11,151	24,576	0,596	0,508	0,179	0,352
317	71,766	133,832	3,958	6,653	12,436	20,902	0,579	0,511	0,188	0,285
318	39,452	135,297	2,388	6,379	7,504	20,039	0,540	0,482	0,138	0,271
319	45,889	105,928	2,833	5,010	8,900	15,737	0,632	0,474	0,171	0,219
321	61,033	110,311	3,194	5,359	10,034	16,838	0,543	0,490	0,155	0,237
322	51,099	100,680	2,944	4,970	9,251	15,614	0,585	0,503	0,156	0,232
325	121,862	190,629	5,727	8,049	17,992	25,286	0,480	0,440	0,238	0,310
326	82,881	149,485	4,211	6,714	13,228	21,091	0,516	0,483	0,194	0,265
327	64,291	65,019	3,094	2,904	9,720	9,124	0,495	0,500	0,133	0,123
328	26,204	101,132	1,721	5,207	5,406	16,357	0,660	0,518	0,107	0,245
330	57,664	132,102	3,181	6,003	9,992	18,859	0,595	0,476	0,161	0,247
331	81,706	155,249	4,165	6,803	13,085	21,373	0,533	0,469	0,193	0,271
332	81,184	133,987	4,030	5,917	12,663	18,588	0,527	0,444	0,186	0,238
333	75,333	116,689	3,865	4,969	12,143	15,609	0,544	0,438	0,172	0,195
334	49,602	119,348	2,765	6,070	8,688	19,070	0,569	0,482	0,140	0,276
336	70,151	104,990	4,080	4,967	12,819	15,604	0,613	0,483	0,217	0,216
338	43,498	118,420	2,244	5,384	7,049	16,914	0,656	0,473	0,124	0,225
339	-	95,076	-	5,100	-	16,021	-	0,536	-	0,253
340	-	112,136	-	5,037	-	15,823	-	0,457	-	0,210
341	54,630	131,391	3,054	5,983	9,592	18,795	0,571	0,469	0,155	0,238
343	70,016	124,814	3,416	6,129	10,732	19,255	0,578	0,506	0,152	0,280
344	38,662	126,891	2,154	5,810	6,765	18,252	0,574	0,461	0,109	0,241
345	36,132	74,517	2,286	3,468	7,183	10,895	0,597	0,472	0,120	0,150
346	39,680	97,479	2,300	4,713	7,225	14,808	0,609	0,487	0,129	0,201
348	40,838	99,615	2,514	5,427	7,898	17,050	0,616	0,597	0,138	0,278
350	39,000	107,746	2,350	4,682	7,382	14,710	0,615	0,455	0,133	0,192
351	57,079	115,341	2,972	5,307	9,337	16,673	0,534	0,457	0,146	0,226
352	43,176	86,503	2,225	4,348	6,989	13,659	0,605	0,523	0,107	0,221
353	23,974	76,664	1,478	3,815	4,642	11,985	0,626	0,506	0,092	0,174
354	55,478	124,097	2,910	5,331	9,142	16,749	0,528	0,426	0,140	0,209
355	19,671	222,598	1,770	8,851	5,561	27,807	0,576	0,401	0,130	0,300

356	40,457	115,567	2,241	5,102	7,042	16,028	0,562	0,457	0,118	0,203
357	32,015	76,247	2,032	4,212	6,384	13,234	0,653	0,558	0,121	0,222
360	45,084	128,086	2,410	5,795	7,572	18,206	0,546	0,461	0,125	0,247
361	46,222	71,423	2,623	3,503	8,239	11,005	0,615	0,499	0,149	0,157
362	45,808	76,680	2,272	3,439	7,138	10,803	0,510	0,435	0,104	0,140
364	98,657	112,912	4,858	4,999	15,263	15,705	0,504	0,452	0,219	0,204
365	42,992	108,963	2,276	5,343	7,151	16,786	0,572	0,455	0,118	0,242
367	77,639	136,050	3,574	5,746	11,228	18,052	0,498	0,448	0,154	0,214
368	66,193	156,689	3,255	6,772	10,227	21,275	0,510	0,441	0,136	0,252
369	71,934	75,304	3,855	3,722	12,110	11,693	0,558	0,542	0,182	0,171
372	49,211	131,901	2,702	5,515	8,487	17,325	0,575	0,378	0,146	0,215
373	58,764	98,324	2,857	3,914	8,976	12,296	0,501	0,398	0,125	0,136
375	63,936	145,772	3,619	6,473	11,371	20,336	0,596	0,451	0,188	0,250
377	30,084	87,730	1,686	3,959	5,298	12,439	0,558	0,463	0,091	0,170
378	53,679	101,626	3,012	4,993	9,464	15,685	0,586	0,494	0,158	0,219
379	39,148	107,272	2,237	4,653	7,028	14,617	0,621	0,452	0,121	0,182
380	50,154	108,013	2,766	5,059	8,688	15,893	0,580	0,475	0,148	0,213
381	49,886	93,566	2,786	4,326	8,752	13,589	0,596	0,473	0,147	0,192
382	50,322	78,093	2,897	3,819	9,100	11,999	0,590	0,494	0,156	0,175
384	35,302	69,617	2,088	3,408	6,561	10,706	0,608	0,513	0,111	0,152
385	56,402	119,347	3,196	5,658	10,041	17,774	0,584	0,482	0,168	0,246
386	74,609	111,518	3,676	4,979	11,548	15,642	0,510	0,452	0,170	0,198
387	65,482	150,910	3,402	7,272	10,688	22,845	0,563	0,490	0,164	0,308
388	44,936	108,363	2,569	4,974	8,071	15,627	0,583	0,463	0,141	0,213
390	58,516	126,937	3,041	6,073	9,553	19,080	0,580	0,444	0,151	0,262
391	42,008	116,448	2,352	5,305	7,389	16,667	0,591	0,467	0,136	0,231
392	21,673	87,484	1,317	4,259	4,138	13,379	0,606	0,490	0,075	0,187
393	50,221	153,413	3,010	6,648	9,456	20,884	0,531	0,444	0,159	0,254
394	33,692	93,174	2,160	5,018	6,785	15,763	0,655	0,546	0,126	0,252
395	45,902	124,589	3,026	6,146	9,505	19,308	0,679	0,519	0,207	0,276
396	77,531	127,835	4,555	6,263	14,310	19,674	0,656	0,498	0,259	0,282
397	53,830	161,919	3,173	6,986	9,967	21,947	0,611	0,474	0,173	0,270
398	76,346	144,786	3,896	6,639	12,238	20,855	0,553	0,461	0,195	0,269
399	71,557	144,557	3,787	6,222	11,897	19,547	0,572	0,437	0,177	0,232
400	32,479	88,796	1,937	4,183	6,087	13,142	0,634	0,502	0,108	0,185
401	40,763	100,196	2,763	4,698	8,680	14,758	0,653	0,506	0,176	0,209
404	108,958	168,432	5,197	7,068	16,327	22,206	0,497	0,455	0,232	0,264
405	72,889	117,506	4,020	6,236	12,629	19,591	0,599	0,537	0,207	0,298
406	68,863	129,582	3,402	5,317	10,688	16,703	0,534	0,432	0,154	0,196
407	77,137	171,811	3,878	7,333	12,184	23,038	0,535	0,428	0,189	0,288
410	56,574	126,050	3,351	6,192	10,526	19,454	0,630	0,511	0,180	0,270
411	41,346	117,754	2,509	5,658	7,881	17,776	0,603	0,485	0,152	0,249
413	66,432	119,922	3,509	5,733	11,025	18,012	0,554	0,480	0,169	0,242
415	78,078	140,254	3,825	6,315	12,017	19,839	0,559	0,453	0,181	0,256

416	67,315	117,827	3,518	5,428	11,051	17,054	0,576	0,476	0,172	0,233
417	67,137	109,369	3,035	4,641	9,535	14,582	0,578	0,447	0,126	0,175
418	57,340	137,602	2,851	5,929	8,956	18,626	0,515	0,440	0,131	0,233
419	66,099	126,823	3,354	5,904	10,536	18,547	0,592	0,474	0,181	0,253
421	72,197	108,407	3,398	4,665	10,674	14,655	0,500	0,442	0,174	0,184
422	29,037	99,711	1,750	4,788	5,499	15,043	0,617	0,503	0,094	0,202
423	60,036	88,397	3,294	4,372	10,349	13,736	0,583	0,515	0,154	0,190
424	65,033	139,237	3,465	6,578	10,887	20,666	0,582	0,497	0,177	0,293
425	48,741	84,622	2,518	3,762	7,909	11,817	0,613	0,462	0,127	0,153

RC-raiz – Recuperação do crescimento – Raiz

Anexo 8. Valores médios de Recuperação do Crescimento de Parte Aérea das linhagens RILs para tolerância ao frio em condições controladas

Linha	RC-PA Comp		RC-PA ArPr		RC-PA ArSu		RC-PA DiaM		RC-PA Vol	
	Estresse	Controle	Estresse	Controle	Estresse	Controle	Estresse	Controle	Estresse	Controle
Amaroo	29,657	46,613	2,983	4,371	9,372	13,733	1,031	0,934	0,265	0,349
Chorinho	20,481	38,360	2,232	3,915	7,013	12,298	1,087	1,018	0,222	0,341
249	31,729	55,023	3,829	6,871	12,028	21,587	1,203	1,252	0,392	0,714
250	22,349	32,572	2,461	3,957	7,730	12,433	1,103	1,216	0,255	0,410
251	26,265	34,633	3,601	5,030	11,314	15,803	1,356	1,443	0,427	0,618
253	24,178	37,090	2,834	4,609	8,902	14,479	1,208	1,248	0,301	0,492
254	30,193	39,138	2,930	4,409	9,205	13,852	0,978	1,142	0,252	0,430
255	27,783	39,501	3,247	4,583	10,199	14,399	1,174	1,165	0,329	0,443
256	34,758	46,659	4,075	6,146	12,802	19,309	1,174	1,321	0,403	0,667
258	27,923	43,436	3,283	5,282	10,314	16,595	1,173	1,216	0,324	0,549
259	20,674	29,091	2,295	3,313	7,211	10,407	1,129	1,137	0,245	0,323
260	24,756	37,198	2,745	5,069	8,625	15,926	1,120	1,344	0,285	0,589
261	26,105	40,724	2,720	4,900	8,546	15,394	1,052	1,203	0,267	0,495
262	25,263	37,938	3,239	5,789	10,175	18,188	1,280	1,530	0,357	0,781
264	25,834	35,906	3,001	4,805	9,428	15,095	1,167	1,342	0,298	0,534
265	26,355	37,371	3,448	5,402	10,833	16,969	1,300	1,448	0,396	0,704
266	20,633	30,726	2,466	4,403	7,748	13,831	1,202	1,409	0,278	0,540
268	26,948	44,187	3,153	5,423	9,906	17,037	1,165	1,235	0,326	0,559
269	25,437	33,573	3,109	4,175	9,768	13,117	1,222	1,248	0,351	0,443
272	22,233	28,667	2,534	3,827	7,961	12,024	1,162	1,330	0,255	0,430
274	28,866	36,338	3,064	4,174	9,625	13,114	1,058	1,155	0,285	0,406
275	34,886	49,802	4,119	6,289	12,940	19,758	1,182	1,259	0,415	0,650
276	29,361	42,270	3,802	5,815	11,946	18,270	1,293	1,384	0,424	0,681
279	22,896	34,449	2,616	4,592	8,218	14,426	1,147	1,339	0,277	0,521
280	25,652	43,576	2,620	5,379	8,229	16,897	1,034	1,238	0,263	0,561
281	23,185	42,825	3,063	5,742	9,623	18,039	1,315	1,350	0,327	0,657
282	23,871	36,306	2,826	4,591	8,877	14,423	1,276	1,270	0,294	0,497
283	23,613	34,212	2,510	4,041	7,887	12,696	1,063	1,185	0,234	0,402
284	22,801	28,515	2,473	3,565	7,769	11,201	1,088	1,252	0,253	0,369
285	29,194	40,643	3,420	4,509	10,744	14,164	1,176	1,115	0,341	0,418
286	23,967	37,661	2,630	4,502	8,262	14,144	1,096	1,215	0,244	0,460
287	22,998	40,842	2,815	4,679	8,844	14,700	1,182	1,155	0,319	0,450
288	27,050	40,852	2,997	5,268	9,416	16,549	1,106	1,291	0,292	0,580
290	34,865	56,084	3,872	6,736	12,164	21,162	1,105	1,217	0,356	0,650
291	32,536	41,278	3,850	4,133	12,093	12,984	1,186	1,009	0,378	0,346
292	34,802	49,683	3,514	5,585	11,039	17,546	1,004	1,123	0,305	0,533
293	33,494	42,772	3,397	4,710	10,672	14,797	1,014	1,103	0,284	0,440
294	24,582	35,022	2,536	3,897	7,968	12,242	1,034	1,116	0,230	0,359

295	24,139	40,060	3,001	4,918	9,428	15,449	1,274	1,232	0,335	0,510
296	29,485	39,244	3,809	5,632	11,968	17,693	1,247	1,433	0,442	0,681
297	30,436	46,000	3,321	5,668	10,433	17,805	1,092	1,243	0,301	0,600
298	27,478	41,762	2,748	5,089	8,634	15,986	1,001	1,211	0,245	0,546
299	36,183	52,824	3,990	6,532	12,536	20,520	1,102	1,234	0,359	0,707
300	23,329	38,670	2,559	4,344	8,040	13,648	1,098	1,132	0,247	0,424
301	39,383	51,751	4,709	6,219	14,793	19,538	1,193	1,200	0,463	0,620
302	31,839	51,139	3,848	6,161	12,089	19,354	1,204	1,206	0,381	0,618
304	27,142	36,768	2,947	4,199	9,260	13,193	1,088	1,143	0,268	0,408
305	29,613	43,198	3,109	5,564	9,768	17,481	1,048	1,291	0,278	0,623
306	27,843	43,870	3,726	5,550	11,706	17,437	1,340	1,300	0,412	0,593
307	28,988	42,338	3,349	5,777	10,520	18,149	1,153	1,371	0,327	0,658
312	25,517	37,471	2,714	4,489	8,525	14,103	1,063	1,190	0,249	0,453
316	29,896	49,576	3,293	5,445	10,345	17,105	1,102	1,101	0,319	0,503
317	28,620	42,615	3,392	5,695	10,656	17,892	1,177	1,341	0,348	0,653
318	19,971	31,579	2,245	4,709	7,052	14,792	1,187	1,500	0,233	0,587
319	30,634	42,447	3,418	5,507	10,737	17,301	1,113	1,300	0,339	0,603
321	33,557	47,524	3,905	5,683	12,268	17,854	1,161	1,201	0,382	0,582
322	26,493	35,796	2,907	4,794	9,132	15,061	1,102	1,337	0,287	0,536
325	31,967	47,868	4,284	6,245	13,459	19,620	1,347	1,329	0,472	0,667
326	36,770	55,613	3,915	6,276	12,299	19,716	1,067	1,132	0,349	0,613
327	35,004	45,487	3,538	4,691	11,115	14,738	1,009	1,034	0,305	0,412
328	21,134	36,266	2,295	4,266	7,210	13,402	1,086	1,183	0,245	0,418
330	27,830	39,114	2,911	4,904	9,144	15,408	1,050	1,250	0,273	0,506
331	29,056	41,373	3,730	5,723	11,717	17,978	1,283	1,383	0,407	0,698
332	32,955	52,125	4,291	6,595	13,479	20,718	1,298	1,269	0,464	0,694
333	29,135	37,805	3,059	4,594	9,611	14,433	1,050	1,214	0,283	0,482
334	26,780	42,971	2,921	5,424	9,177	17,041	1,092	1,271	0,283	0,569
336	25,636	33,234	3,197	4,270	10,044	13,415	1,201	1,266	0,369	0,469
338	19,629	33,939	2,393	4,627	7,518	14,536	1,200	1,365	0,255	0,541
339	-	42,377	-	5,251	-	16,496	-	1,232	-	0,538
340	-	38,486	-	4,439	-	13,944	-	1,155	-	0,424
341	29,636	54,446	2,986	5,528	9,383	17,367	1,041	1,021	0,267	0,480
343	24,672	38,459	3,303	5,563	10,379	17,477	1,313	1,444	0,398	0,672
344	26,143	53,466	2,934	5,731	9,219	18,006	1,116	1,083	0,300	0,514
345	24,220	34,084	2,544	4,366	7,993	13,716	1,054	1,283	0,233	0,475
346	25,836	40,115	2,980	5,590	9,362	17,562	1,164	1,403	0,316	0,676
348	32,808	44,542	3,568	5,195	11,210	16,320	1,089	1,159	0,329	0,531
350	27,318	44,877	2,920	5,289	9,175	16,615	1,064	1,196	0,281	0,516
351	27,185	39,997	2,782	5,245	8,739	16,478	1,026	1,317	0,261	0,586
352	21,184	33,261	2,485	4,387	7,807	13,782	1,185	1,320	0,258	0,486
353	22,029	38,679	2,418	4,600	7,595	14,450	1,101	1,191	0,250	0,462
354	32,208	50,019	3,657	5,336	11,489	16,764	0,824	1,071	0,353	0,475
355	31,731	52,059	3,623	6,103	11,382	19,174	1,183	1,169	0,347	0,597

356	26,483	40,448	2,908	5,240	9,134	16,461	1,099	1,300	0,277	0,579
357	27,471	34,921	3,084	5,136	9,689	16,135	1,136	1,466	0,304	0,635
360	26,936	36,741	3,111	5,426	9,774	17,046	1,162	1,475	0,319	0,677
361	28,227	42,173	2,961	5,034	9,302	15,814	1,049	1,196	0,285	0,508
362	23,220	35,162	2,650	3,865	8,325	12,143	1,155	1,090	0,272	0,363
364	31,219	43,968	3,493	5,174	10,972	16,254	1,119	1,174	0,324	0,508
365	21,773	36,665	2,315	4,434	7,274	13,928	1,072	1,202	0,229	0,437
367	29,060	47,098	3,292	5,092	10,342	15,996	1,131	1,092	0,320	0,465
368	25,970	40,819	2,790	4,946	8,765	15,539	1,072	1,221	0,253	0,516
369	28,830	41,744	3,285	4,683	10,320	14,711	1,144	1,133	0,322	0,447
372	26,953	39,868	2,888	5,367	9,073	16,861	1,070	1,364	0,270	0,619
373	24,258	33,978	2,975	3,757	9,346	11,804	1,223	1,106	0,307	0,342
375	28,403	49,391	3,776	5,821	11,864	18,288	1,324	1,176	0,430	0,571
377	20,341	28,244	2,117	3,316	6,652	10,418	1,049	1,171	0,206	0,330
378	25,648	37,171	3,060	4,817	9,613	15,132	1,195	1,309	0,324	0,523
379	22,256	31,575	2,391	3,827	7,511	12,024	1,078	1,209	0,234	0,397
380	28,204	48,171	3,437	5,890	10,796	18,504	1,211	1,224	0,359	0,601
381	28,510	40,390	3,085	4,789	9,693	15,046	1,089	1,178	0,290	0,481
382	24,446	36,995	2,607	4,751	8,189	14,926	1,065	1,290	0,262	0,504
384	20,312	27,300	2,191	3,673	6,884	11,539	1,091	1,324	0,210	0,451
385	25,587	44,235	2,779	5,476	8,731	17,202	1,106	1,239	0,259	0,556
386	29,843	46,117	3,767	5,269	11,835	16,554	1,258	1,148	0,406	0,511
387	31,158	49,375	3,494	5,695	10,977	17,893	1,114	1,166	0,336	0,560
388	33,054	48,595	3,381	5,341	10,622	16,778	1,029	1,099	0,295	0,489
390	26,467	43,930	2,819	5,930	8,855	18,628	1,077	1,374	0,278	0,651
391	29,610	45,230	3,040	4,612	9,549	14,488	1,028	1,011	0,278	0,400
392	21,917	45,106	2,447	5,218	7,688	16,392	1,121	1,169	0,252	0,506
393	29,149	44,649	3,450	5,816	10,840	18,271	1,196	1,305	0,344	0,625
394	26,049	40,721	3,175	5,692	9,974	17,881	1,209	1,404	0,332	0,666
395	27,744	40,173	3,091	5,162	9,709	16,216	1,120	1,276	0,316	0,548
396	27,471	40,847	3,522	5,469	11,064	17,182	1,275	1,356	0,411	0,625
397	28,631	42,815	3,243	6,141	10,187	19,292	1,132	1,407	0,312	0,791
398	29,412	47,098	3,403	5,413	10,691	17,005	1,161	1,152	0,327	0,504
399	32,747	47,491	4,100	5,706	12,882	17,928	1,246	1,208	0,426	0,577
400	23,345	34,703	2,394	4,035	7,522	12,676	1,061	1,160	0,228	0,404
401	26,716	37,220	3,215	4,624	10,099	14,526	1,199	1,228	0,341	0,490
404	37,520	49,800	4,394	6,248	13,805	19,630	1,184	1,263	0,449	0,675
405	32,985	47,082	4,081	5,728	12,821	17,995	1,255	1,205	0,414	0,594
406	28,279	39,834	3,073	4,415	9,655	13,871	1,084	1,103	0,296	0,404
407	33,763	53,569	3,829	6,306	12,030	19,811	1,158	1,173	0,369	0,626
410	32,848	46,967	3,716	5,937	11,675	18,653	1,153	1,264	0,391	0,648
411	23,502	37,090	3,164	4,492	9,942	14,111	1,316	1,213	0,352	0,445
413	26,889	41,264	3,088	4,623	9,701	14,525	1,147	1,126	0,309	0,437
415	32,877	44,161	4,168	5,316	13,095	16,701	1,236	1,202	0,454	0,527

416	34,287	52,949	4,124	6,059	12,957	19,036	1,247	1,147	0,432	0,580
417	32,685	43,129	3,329	4,819	10,458	15,139	1,012	1,133	0,294	0,457
418	24,114	34,287	2,667	4,467	8,378	14,034	1,103	1,301	0,256	0,489
419	29,645	47,263	3,989	5,462	12,532	17,161	1,327	1,154	0,448	0,520
421	30,602	40,813	3,776	4,768	11,862	14,978	1,228	1,168	0,414	0,480
422	25,727	37,255	3,057	5,162	9,603	16,216	1,198	1,376	0,323	0,600
423	28,446	39,779	3,317	5,626	10,419	17,673	1,194	1,414	0,341	0,716
424	32,539	52,874	4,214	6,984	13,238	21,942	1,294	1,318	0,468	0,767
425	23,215	31,734	2,669	3,461	8,384	10,872	1,141	1,083	0,275	0,320

RC-PA – Recuperação do crescimento – Parte Aérea

Anexo 9. Valores médios das avaliações radiculares das linhagens RILs para tolerância à seca em duas profundidades de solo em condição de estresse por restrição hídrica (A=20-40cm) (B=40-60cm)

Linhagens	CompA	ArPrA	ArSuA	DiaMA	VoIA	CompB	ArPrB	ArSuB	DiaMB	VoIB
1	6,303	5,913	5,751	10,421	5,956	14,533	15,119	13,661	9,337	8,843
3	6,181	5,232	5,259	9,389	5,255	5,380	6,959	6,772	9,350	8,671
4	6,346	5,738	5,814	8,628	5,161	4,171	5,176	5,344	9,117	7,851
7	6,328	5,228	5,345	9,036	5,027	13,691	10,420	12,316	9,257	8,546
8	6,643	6,317	6,322	8,973	5,039	8,814	7,424	8,508	9,151	8,268
11	6,347	5,647	5,797	9,785	4,964	9,365	10,086	10,092	9,522	9,230
13	6,492	6,587	6,381	9,806	5,977	8,506	8,745	11,002	9,396	8,848
16	6,376	5,738	5,876	9,406	5,431	12,227	9,630	9,685	9,270	8,884
17	6,356	5,549	5,637	9,365	4,943	8,663	7,776	9,445	9,432	8,671
18	6,234	4,863	4,777	9,490	5,706	11,598	6,522	7,585	9,297	8,704
19	6,357	5,588	5,591	9,147	5,327	3,879	6,052	7,071	9,292	8,246
21	6,548	6,220	6,239	8,906	5,333	10,775	12,749	12,077	9,293	8,634
23	6,568	6,676	6,503	9,504	6,072	12,111	12,322	11,820	9,504	8,918
24	6,629	6,352	6,422	8,483	5,209	8,545	7,873	8,013	9,262	8,678
25	6,531	6,145	6,248	9,139	5,124	6,361	6,976	6,969	9,185	8,052
28	6,427	6,187	5,991	9,789	6,028	4,522	5,275	5,363	9,468	8,327
29	6,302	6,617	6,433	8,900	5,783	6,434	6,160	6,577	9,241	7,756
30	6,456	6,285	6,147	9,634	5,970	10,587	9,500	10,541	9,435	8,831
32	6,164	5,819	5,626	8,984	6,122	8,060	6,215	8,829	9,424	8,529
34	6,310	5,706	5,660	10,176	5,415	5,130	7,110	7,018	9,312	8,153
36	6,621	6,404	6,420	8,742	5,302	7,963	7,826	7,763	9,195	8,280
38	6,382	7,430	7,097	9,835	6,595	10,272	15,142	14,397	9,450	8,900
39	6,271	5,850	5,759	8,268	5,701	6,110	5,510	5,904	9,293	8,051
43	6,410	6,082	5,859	10,081	6,143	6,699	8,013	7,410	9,407	8,811
44	6,658	6,681	6,293	8,694	6,170	13,046	13,305	13,058	9,361	8,879
46	6,573	6,815	6,280	8,880	6,185	9,671	14,066	11,870	9,438	8,526
51	6,136	5,205	5,141	7,890	5,497	10,292	10,861	10,123	9,272	8,765
56	6,638	6,770	6,590	8,728	5,854	11,045	11,120	10,159	9,369	8,383
58	6,177	4,837	4,953	8,733	4,854	6,613	7,299	7,341	9,174	8,393

62	6,709	6,969	6,876	9,008	5,594	12,802	14,144	14,256	9,370	9,030
64	6,546	7,630	6,279	9,330	6,014	5,737	7,483	8,933	9,176	8,475
69	6,575	6,483	6,412	9,053	5,564	9,759	8,527	9,411	9,126	8,860
70	6,665	6,905	6,792	9,254	5,732	10,937	10,175	10,505	9,287	8,497
71	6,803	7,724	7,372	9,275	6,404	18,167	13,858	14,568	9,182	9,374
72	6,688	6,868	6,762	8,931	5,633	8,311	7,764	8,277	9,159	8,309
73	6,541	6,276	6,202	9,495	4,991	7,241	7,221	7,238	9,409	7,806
75	6,742	7,340	7,049	8,850	5,846	7,655	7,252	9,088	9,156	8,761
76	6,767	7,393	7,238	9,035	5,923	13,062	11,257	11,903	9,370	8,787
77	6,946	8,949	8,254	8,408	6,966	22,179	16,657	17,020	9,354	9,187
79	6,616	6,366	6,223	10,690	5,686	14,142	12,225	12,105	9,318	8,687
80	6,272	4,973	5,178	5,491	4,658	8,452	8,493	8,215	9,224	8,378
81	6,237	5,917	5,245	9,219	5,220	10,101	8,891	9,889	9,292	8,652
82	6,322	6,034	5,894	9,755	6,255	9,080	6,524	9,094	9,382	8,568
83	6,609	6,649	6,550	9,076	5,692	12,207	10,328	11,659	9,538	9,004
85	6,840	6,955	6,620	9,900	6,572	9,439	9,220	10,361	9,352	8,860
86	6,298	5,584	5,533	9,961	5,706	7,361	7,104	8,015	9,452	8,274
87	6,388	5,717	5,486	9,250	6,510	6,654	6,568	6,803	9,318	8,132
88	6,868	8,022	7,916	9,333	5,688	9,043	8,548	8,635	9,230	8,322
90	6,321	5,607	5,415	8,410	5,807	17,090	13,558	14,650	9,269	9,084
91	6,794	7,642	7,287	9,182	6,391	14,674	12,354	12,408	9,166	8,743
92	6,316	5,917	5,556	7,309	5,770	9,183	8,277	8,490	9,210	8,776
93	6,998	7,928	7,564	9,736	6,749	16,520	12,997	14,603	9,318	9,080
94	6,353	4,748	4,875	9,154	4,930	10,987	10,893	11,408	9,409	9,116
95	6,630	6,805	6,563	9,147	6,059	17,440	11,908	13,872	9,202	9,104
96	6,854	8,306	7,475	8,794	6,253	14,391	11,714	12,556	9,310	8,905
97	6,723	6,916	6,782	8,735	5,765	13,397	9,624	11,661	9,178	8,793
98	6,519	5,613	5,962	8,762	5,593	8,519	8,429	12,299	9,324	9,040
99	6,769	7,445	7,317	9,338	5,355	8,255	7,641	8,824	9,530	8,659
100	6,714	7,616	7,236	9,265	6,448	9,971	9,575	9,491	9,439	8,880
101	6,249	5,302	5,368	7,916	5,147	10,074	9,125	10,200	9,264	8,746
102	6,418	5,829	5,595	8,947	6,076	9,368	10,310	10,254	9,273	8,480
104	6,308	5,157	4,588	8,072	4,941	5,199	5,703	7,059	9,083	8,361

106	6,409	5,892	5,936	9,861	6,051	11,125	12,993	13,104	9,598	8,896
107	6,628	8,787	8,148	9,547	5,943	18,206	12,140	15,527	9,265	8,867
108	6,669	6,392	6,255	8,351	6,134	11,755	8,808	11,010	9,175	9,011
109	6,660	6,998	6,737	8,007	5,856	7,561	7,965	10,498	9,303	8,946
111	6,594	7,042	6,466	9,329	6,380	15,572	11,979	14,184	9,169	8,925
112	6,521	6,005	5,386	9,158	5,824	7,046	5,977	6,226	9,193	8,346
113	6,211	5,224	5,173	9,111	5,548	10,295	9,430	9,574	9,307	8,594
114	6,389	5,720	5,639	9,036	5,050	7,179	9,520	9,052	9,458	9,130
115	6,632	6,733	6,575	9,200	5,863	16,351	12,720	13,949	9,381	9,275
116	6,642	6,976	6,781	9,468	5,965	7,149	7,134	7,852	9,417	8,307
118	6,657	6,556	6,559	8,691	5,351	11,479	10,085	10,830	9,393	8,851
120	6,801	6,471	6,545	9,352	5,256	13,747	11,447	12,374	9,309	9,068
121	6,227	5,364	4,812	9,848	5,669	14,480	12,005	13,305	9,295	9,215
123	6,197	4,870	4,820	9,198	5,728	11,558	9,826	10,830	9,302	8,807
124	6,354	5,827	5,637	9,393	6,009	7,965	7,835	7,946	9,412	8,443
125	6,302	4,897	4,957	8,675	5,104	7,236	6,511	10,249	9,035	8,540
128	6,667	6,798	6,735	8,835	5,543	10,422	8,988	10,296	9,182	8,404
129	6,671	6,757	6,735	8,894	5,464	13,999	9,877	15,532	9,373	8,384
132	6,359	5,458	5,480	8,757	4,744	6,224	6,501	6,569	9,323	8,538
138	6,362	5,593	5,340	8,758	6,081	9,231	6,310	7,206	9,359	8,540
139	6,482	5,893	5,863	8,742	5,472	8,230	7,877	8,088	9,228	8,589
141	6,332	5,374	5,010	8,543	5,210	8,863	7,000	8,690	9,111	8,409
143	6,135	4,871	4,846	9,308	5,341	8,475	9,004	8,329	9,359	8,722
144	6,562	6,555	6,342	9,291	6,103	8,772	7,949	9,060	9,334	8,379
145	6,372	6,047	5,791	9,576	6,190	16,374	12,093	13,799	9,217	8,648
147	6,243	4,546	4,441	5,957	5,511	7,457	7,250	7,209	9,359	8,638
150	6,857	8,461	8,099	9,292	6,073	15,772	12,043	13,600	9,390	8,430
151	6,719	6,941	6,915	8,735	5,487	9,054	8,933	9,506	9,063	8,543
152	6,434	5,795	5,709	8,918	5,593	13,015	11,487	10,654	9,222	8,612
153	6,570	6,533	6,402	9,026	5,760	7,506	8,622	7,268	9,307	8,930
154	6,539	6,378	5,862	9,275	6,295	11,127	12,150	11,091	9,266	8,610
155	6,430	6,036	5,899	9,448	5,867	7,373	7,224	7,622	9,331	8,484
156	6,258	4,974	5,046	7,892	4,932	9,269	7,712	8,659	9,101	8,358

157	6,586	8,128	7,819	10,197	5,846	9,758	11,820	12,997	9,222	8,743
158	6,561	6,559	6,263	9,107	6,379	9,388	9,256	8,444	9,464	8,799
159	6,580	6,712	6,593	9,105	5,277	9,295	8,863	9,330	9,273	8,589
160	6,650	6,659	6,591	9,083	5,496	8,929	8,332	8,764	9,274	8,543
161	6,459	5,914	5,885	8,856	5,445	7,162	7,464	9,085	9,354	8,756
163	6,732	7,068	6,895	8,697	6,426	7,503	6,769	7,555	9,371	8,345
164	6,542	6,699	6,299	9,573	7,238	7,779	8,979	8,982	9,323	8,497
165	6,343	5,795	5,357	8,833	5,897	11,578	10,570	10,870	9,384	8,781
167	6,976	8,641	7,823	8,248	6,564	10,338	12,718	12,770	9,194	9,033
168	6,674	6,714	6,609	8,617	5,662	9,729	7,437	8,625	9,323	8,625
169	6,446	5,797	5,744	9,004	5,526	10,954	7,814	9,984	8,934	8,481
170	6,775	7,305	7,038	8,719	6,079	5,807	5,877	6,322	9,278	8,348
171	6,481	5,809	5,696	8,488	5,500	9,443	8,992	8,995	9,278	8,733
172	6,126	5,074	4,914	6,315	5,837	7,038	6,947	6,847	9,499	8,689
173	6,622	7,042	6,636	9,034	5,513	14,549	11,919	12,832	9,319	8,797
174	6,566	5,865	5,946	8,417	5,675	10,209	9,501	9,083	9,409	8,743
177	6,629	6,450	6,540	8,953	5,253	10,569	10,321	10,093	9,373	8,982
178	6,730	6,952	6,223	8,854	5,263	13,450	9,503	12,378	9,434	8,279
179	6,443	5,787	5,602	8,606	5,828	9,029	8,769	7,883	9,085	8,751
180	6,718	7,281	6,997	8,968	6,019	6,793	6,343	6,903	9,252	8,358
183	6,219	4,857	4,897	8,617	5,069	9,870	7,780	9,586	9,209	8,533
185	6,114	4,916	4,993	9,548	5,030	9,794	8,853	9,842	9,342	8,479
186	6,491	6,037	6,035	9,133	5,367	5,974	6,040	6,390	9,162	8,368
187	6,919	7,819	7,796	9,235	8,323	14,132	12,096	12,209	9,269	8,961
188	6,582	6,569	6,482	9,336	5,692	11,111	9,293	9,366	9,273	8,746
189	6,561	7,226	6,754	10,003	6,961	20,974	16,205	13,068	9,498	8,594
191	6,384	6,120	6,083	9,597	5,637	9,661	9,345	9,513	9,266	8,656
192	6,426	5,794	5,806	9,099	5,311	9,518	9,474	8,987	9,403	8,615
195	6,097	4,760	4,764	6,287	5,636	8,831	8,565	7,956	9,083	8,643
196	6,357	5,429	5,433	6,137	5,375	7,659	7,117	7,524	9,197	8,461
197	6,613	6,654	6,407	8,950	5,712	13,020	11,553	11,670	9,267	8,915
199	6,222	5,143	4,990	8,996	5,305	9,901	7,866	8,100	9,245	8,584
200	6,780	7,602	7,381	9,013	5,547	12,342	9,059	11,573	9,229	8,253

202	6,345	5,574	5,519	9,291	5,994	9,224	8,119	9,373	9,522	8,440
203	6,366	5,959	5,361	8,137	4,808	10,858	10,062	9,664	9,197	8,615
204	6,314	5,726	5,410	9,124	6,161	14,556	10,094	12,798	9,362	8,771
205	6,678	8,305	8,017	9,632	5,902	9,963	9,990	9,816	9,429	8,935
207	6,342	5,792	5,752	9,446	5,464	6,712	6,674	6,915	9,213	8,484
209	6,524	6,448	6,356	9,302	5,673	8,237	7,910	8,704	9,345	8,453
210	6,482	5,142	5,354	9,517	4,828	12,652	10,289	10,591	9,392	8,433
211	6,420	5,588	5,558	8,796	5,438	5,188	7,690	7,743	9,338	8,658
212	6,521	6,226	6,141	9,175	5,643	10,602	6,441	9,022	9,327	8,553
213	6,094	4,509	4,486	4,939	5,281	15,175	12,898	12,969	9,398	9,097
214	6,257	6,755	6,550	9,561	6,083	6,953	7,294	7,019	9,331	8,733
215	6,338	5,442	5,376	8,801	5,599	11,523	10,032	10,266	9,129	8,715
216	6,524	6,000	6,110	8,828	5,008	7,930	7,130	8,680	9,085	8,425
219	6,815	7,434	7,078	8,725	6,371	13,266	10,833	11,668	9,322	8,679
221	6,507	6,941	6,803	8,448	5,133	6,904	6,679	7,198	9,390	8,427
229	6,497	5,028	5,264	9,637	5,583	10,602	7,609	10,032	9,346	8,592
227	6,536	6,183	6,234	9,138	5,230	10,018	11,249	11,226	9,304	8,579
228	6,614	6,444	6,293	8,682	6,255	8,988	8,596	8,629	9,305	8,712
232	6,359	5,425	5,289	9,100	5,764	10,914	11,578	12,142	9,120	8,579
233	6,536	6,446	6,156	8,979	6,272	5,967	5,676	6,325	9,162	8,268
234	6,609	6,204	6,481	9,022	5,797	9,358	8,978	8,985	9,332	8,743
236	6,707	6,943	6,892	8,958	5,136	8,645	7,755	8,619	9,328	8,430
237	6,463	6,375	5,364	10,183	6,244	12,737	10,159	10,506	9,300	8,722
240	6,316	5,881	5,253	9,093	6,066	7,589	7,216	8,520	9,243	8,525
241	6,513	6,220	5,489	9,177	5,393	17,206	15,512	14,221	9,229	9,094
243	6,408	5,689	5,692	9,238	5,346	7,424	7,338	7,454	9,255	8,571
245	6,067	5,216	5,007	6,579	5,962	10,660	7,776	8,106	9,352	8,556
246	6,477	6,683	6,223	7,381	6,769	9,378	8,731	9,118	9,425	8,674
247	6,533	6,484	6,390	9,487	5,551	12,655	11,397	10,500	9,429	8,610
248	5,738	3,841	3,799	9,179	5,816	8,635	8,790	8,380	9,406	8,915
249	6,362	5,407	5,292	8,144	5,565	9,042	8,187	8,525	9,374	8,597
250	6,457	5,797	5,819	8,975	5,258	11,216	9,953	10,067	9,126	8,430

Anexo 10. Valores médios das avaliações radiculares das linhagens RILs para tolerância à seca em duas profundidades de solo sem restrição hídrica (A=20-40cm) (B=40-60cm)

Linhagem	compA	ArPrA	ArPrA	DiaMA	VolA	CompB	ArPrB	ArSuB	DiaMB	VolB
1	255.6	82.82	26.1	2.827	19.36	68.24	18.48	5.583	2.85	3.856
3	258.2	87.67	27.57	3.093	19.81	122.8	25.55	8.303	2.846	3.891
4	250.7	77.74	24.58	3.324	19.17	112.6	23.59	8.501	2.854	4.105
6	249.2	77.82	24.61	3.067	19.32	76.45	21.19	6.629	2.872	4.028
7	253	84.72	26.68	3.31	19.88	44.27	15.47	4.314	2.865	3.871
8	241	71.84	22.81	3.349	19.2	59.72	18.63	5.642	2.874	3.921
9	245.6	72.41	22.98	3.042	18.89	86.16	17.77	5.232	2.841	3.793
11	249.1	76.07	24.08	2.971	19.09	76.4	19.69	6	2.824	3.752
12	254.1	91.28	28.65	4.985	20.65	87.39	24.99	8.088	2.877	4.113
13	248.3	73.99	23.46	2.945	18.89	77.31	20.32	6.269	2.831	3.795
15	252.3	83.07	26.2	3.513	20.21	88.88	22.51	7.136	2.849	4.05
16	250.3	80.41	25.39	3.099	19.5	57.44	19.73	6.067	2.878	3.844
17	250	80.28	25.37	3.116	20.29	56.26	17.04	5.029	2.869	3.777
18	258.1	100.2	31.34	3.097	20.12	52.26	24.9	6.99	2.86	3.818
19	250.9	82.35	25.97	3.178	19.73	148	22.87	7.286	2.882	4.009
20	246.3	79.24	25.06	3.421	20.84	78.36	22.35	8.049	2.875	3.848
21	243.6	72.89	23.13	3.228	19.09	63.45	18.88	5.74	2.873	3.903
22	240.9	69.5	22.11	3.252	18.98	75.28	20.31	6.288	2.854	3.955
23	243.9	71.87	22.82	3.164	18.94	66.93	18.78	5.702	2.863	3.862
24	239.4	69.76	22.19	3.415	19.07	75.31	21.77	6.85	2.861	3.858
25	242.7	71.39	22.68	3.16	18.98	99.03	24.44	7.879	2.87	4.169
27	248.2	79.45	25.16	2.948	19.61	51.73	16.81	4.016	2.867	3.781
28	250.5	79.52	25.12	3.028	19.46	120.6	28.23	9.406	2.875	3.952
29	255	72.46	23.07	3.264	19.16	83.93	23.44	7.493	2.871	4.212

30	248	76.26	24.14	3.091	19.18	55.71	16.99	5.01	2.85	3.774
32	261.7	85.24	26.84	3.318	19.29	69.28	24.15	5.715	2.828	3.854
34	253.4	82.11	25.9	2.9	20.13	125.2	24.57	7.947	2.864	4.114
36	240.6	70.47	22.4	3.307	19.05	83.71	22.63	7.225	2.871	4.063
37	235	62.86	20.12	3.343	18.53	60.31	18.29	5.511	2.863	3.871
38	251.8	66	21.15	3.024	19.09	73.14	17.25	5.112	2.853	3.764
39	255.8	81.37	25.68	3.527	19.33	92.95	25.39	8.244	2.858	4.048
40	241.2	68.68	21.87	3.126	18.75	56.43	22.3	7.053	2.848	3.812
43	251.5	82.09	25.89	2.972	19.68	108.2	25.47	8.304	2.868	3.92
44	240.6	72.85	23.12	3.492	19.4	56.27	15.28	4.294	2.866	3.88
45	242.7	82.19	25.97	3.254	19.05	52.67	17.18	4.996	2.868	3.685
46	243.1	73.28	23.25	3.312	19.29	69.33	19.38	5.931	2.866	3.902
51	261.4	91.68	28.77	3.683	20.14	65.48	18.58	5.625	2.872	3.861
52	248	77.27	24.44	2.993	19.3	45.94	15.2	4.322	2.838	3.677
56	242.1	70.96	22.55	3.342	19.03	77.16	21.79	6.857	2.883	4.087
58	257.1	91.66	28.77	3.315	20.4	96.73	23.29	7.438	2.883	3.982
62	238.5	66.44	21.19	3.196	18.7	50.33	16.12	4.678	2.858	3.732
64	244.9	63.32	23.73	3.226	19.24	89.02	18.04	5.341	2.865	3.824
66	234.2	62.62	20.05	3.434	18.59	40.38	14.81	4.171	2.874	3.693
69	242.6	71.06	22.66	3.243	19.05	61	18.53	5.536	2.872	3.816
70	239.9	67.6	21.54	3.165	18.72	61.78	18.31	5.52	2.86	3.86
71	236.8	64.05	20.47	3.198	18.52	43.43	15.24	4.337	2.884	3.706
72	239.4	67.85	21.62	3.245	18.8	71.88	20.3	6.285	2.867	3.973
73	244.6	74.52	23.62	3.047	19.27	86.98	23.57	7.543	2.861	4.197
75	239.1	66.21	21.21	3.27	19.33	69.76	19.58	5.977	2.88	3.811
76	236	63.28	20.24	3.294	18.52	51.56	16.71	4.904	2.873	3.785
77	233.1	57.65	18.67	3.568	18.36	39.01	14.45	4.034	2.879	3.667
79	242.6	75.13	23.8	3.451	19.54	55.65	17.84	5.339	2.875	3.877

80	251.6	85.3	26.9	5.207	19.91	73.7	19.97	6.111	2.861	3.916
81	255.1	76.71	27.51	3.241	20.02	58.48	17.94	5.301	2.867	3.836
82	251.8	80.06	25.28	3.021	19.36	66.83	25.17	5.872	2.847	3.891
83	241.5	69.83	22.29	3.278	19.01	47.3	15.84	4.57	2.879	3.734
84	248.5	79.48	28.16	3.153	19.53	38.55	14.61	3.994	2.881	3.859
85	236.1	72.08	22.96	2.993	18.38	61	16.93	4.99	2.853	3.736
86	253.9	84.35	26.57	3.042	19.4	69.94	19.96	6.155	2.866	3.956
87	252.5	88.38	27.78	3.267	20.4	84.65	23.37	7.52	2.873	4.064
88	232.1	56.56	18.23	3.089	17.95	73.98	21.07	6.58	2.871	4.041
90	255.8	88.99	27.96	3.459	20.25	44.77	15.26	4.252	2.858	3.688
91	237.4	64.96	20.75	3.217	18.59	53.38	17.33	5.141	2.901	3.841
92	252.7	82.66	26.06	3.936	19.62	69.24	20.83	6.491	2.898	3.831
93	229.2	61.67	19.83	3.111	17.81	41.38	14.65	4.03	2.875	3.665
94	249.8	93.19	29.23	3.217	20.11	61.82	17.25	5.113	2.859	3.755
95	243	72.12	22.9	3.201	19.08	37.78	14.62	3.998	2.858	3.682
96	234.9	58.96	20.08	3.357	18.52	48.21	16.04	4.647	2.884	3.746
97	238	68	21.66	3.39	18.96	40.83	14.91	4.209	2.859	3.702
98	245.3	77.91	24.64	3.336	19.63	79.59	22.03	4.706	2.869	3.772
99	235.2	62.12	19.9	3.187	18.41	62.42	18.44	5.57	2.852	3.87
100	238.6	65.85	21.02	3.198	18.61	70.04	20.24	6.271	2.869	3.848
101	254.6	85.01	26.77	3.681	19.76	59.5	17.49	5.141	2.852	3.787
102	251.8	86.89	27.33	3.344	20.26	67.11	19.67	5.992	2.875	3.935
103	232	66.29	21.24	3.114	18.01	55.91	17.48	4.373	2.862	3.696
104	251.1	85.03	30.91	3.698	19.95	122.4	29.18	7.668	2.88	3.965
106	248.1	76.65	24.26	3.015	19.22	54.11	16.77	4.929	2.86	3.767
107	243.8	58.44	18.9	3.178	19.4	39.12	14.72	4.017	2.886	3.681
108	242.6	74.56	23.63	3.5	19.45	43.43	15.27	4.348	2.873	3.711
109	241	69.69	22.22	3.839	20.2	88.41	23.88	5.601	2.871	3.86

111	243.7	72.66	23.06	3.13	19.06	43.83	15.41	4.049	2.887	3.722
112	244.3	76.52	26.94	3.218	19.54	65.64	20.43	7.167	2.875	3.826
113	257.6	91.02	28.57	3.252	20.26	66.09	19.65	6.035	2.885	3.962
114	250.6	83.15	26.21	3.287	19.84	123	26.23	7.867	2.861	3.987
115	241.7	70.82	22.51	3.202	19	42.67	14.89	4.204	2.842	3.682
116	241.8	68.69	21.87	3.064	18.71	77.24	20.62	6.41	2.845	3.958
117	261.2	99.16	31.02	3.354	21.04	50.16	16.03	4.644	2.851	3.725
118	239.3	68.94	21.94	3.316	18.95	56.65	17.7	5.204	2.868	3.828
120	235.1	68.17	21.71	3.177	18.82	51.29	16.52	4.735	2.852	3.757
121	256.3	88.08	30.61	3.156	20.04	45.07	15.01	4.251	2.865	3.669
123	259	98.24	30.75	3.193	19.45	54.3	17.27	5.035	2.867	3.805
124	253.7	85.24	26.84	3.163	19.87	78.34	21.94	6.915	2.842	3.898
125	253.4	92.83	29.11	3.284	19.75	72.75	21.15	4.708	2.87	3.898
128	239.7	67.78	21.59	3.263	18.78	54.79	16.7	4.9	2.861	3.898
129	238.8	67.17	21.41	3.281	18.76	38.18	14.58	3.959	2.873	3.898
132	251	83.98	26.46	3.274	19.91	95.9	24.89	8.052	2.867	3.898
138	250.4	85.98	27.06	3.334	20.26	53.94	21.19	6.626	2.872	3.898
139	245.9	78.25	24.8	3.379	19.61	77.24	21.57	6.748	2.874	3.898
141	251.9	85.23	28.92	3.418	20.02	63.77	19	5.787	2.857	3.898
142	254.4	85.68	26.97	3.027	19.86	75.55	25.91	8.442	2.86	3.898
143	260.8	97.22	30.44	3.192	20.8	92.25	23.99	7.707	2.854	3.898
144	244.9	74.62	23.65	3.23	19.22	60.92	18.04	5.414	2.851	3.898
145	254.1	83.84	26.42	3.063	19.63	41.04	15.05	4.146	2.86	3.898
146	243.6	72.4	22.98	3.315	19.04	44.17	15.36	4.383	2.88	3.898
147	258.7	109.4	34.09	4.925	21.32	85.23	23.89	7.668	2.871	3.898
148	246.8	88.21	27.73	3.246	19.8	71.42	25.19	8.167	2.879	3.898
150	234.2	56.58	18.31	3.151	18.26	40.26	14.98	4.175	2.886	3.898
151	236.8	65.15	20.81	3.335	18.68	61.53	18.75	5.689	2.882	3.898

152	249.3	82.09	25.89	3.337	19.81	54.9	17.55	5.227	2.88	3.898
153	244.3	72.69	23.07	3.193	19.01	97.8	26.05	8.498	2.884	3.898
154	247.6	80.13	25.3	3.198	19.73	67.96	20.79	6.474	2.875	3.898
155	249.6	79.97	25.26	3.135	19.5	78.42	21.58	6.779	2.869	3.898
156	254.4	90.78	28.5	3.662	20.6	59.77	18.79	5.703	2.882	3.898
157	243.4	58.77	18.94	2.889	19.14	70.62	15.82	4.474	2.893	3.898
158	246	77.06	24.38	3.314	19.44	69.93	20.03	6.846	2.872	3.898
159	243	70.05	22.28	3.207	18.81	67.99	19.17	5.849	2.86	3.898
160	240.6	69.44	22.09	3.161	18.94	69.82	19.9	6.131	2.851	3.898
161	247.4	78.43	24.79	3.286	19.54	97.23	25.83	6.528	2.878	3.898
163	238.4	67.2	21.42	3.33	18.83	68.87	20.52	6.369	2.861	3.898
164	247.8	78.2	24.72	3.163	19.44	75.36	20.76	6.461	2.865	3.898
165	255.1	90.66	28.47	3.308	20.45	60.52	18.06	5.424	2.858	3.898
167	232.8	59.23	19.66	3.516	18.54	79.56	17.55	5.144	2.892	3.898
168	239.6	69.62	22.15	3.399	19.04	66.3	23.33	6.436	2.864	3.898
169	247.9	80.91	25.54	3.263	19.78	51.67	16.97	4.934	2.879	3.898
170	237.5	66.68	21.27	3.356	18.82	90.16	23.84	7.653	2.869	3.898
171	248.4	82.74	26.09	3.38	20	72.95	20.73	6.449	2.867	3.898
172	263.3	98.92	30.95	4.743	20.9	87.77	24.96	8.078	2.855	3.898
173	240.7	68.26	21.82	3.25	18.9	49.33	16.31	4.651	2.863	3.898
174	244	75.94	24.05	3.449	19.49	71.87	21.64	6.775	2.876	3.898
176	236.3	64.12	20.5	3.243	18.58	55.84	17.49	5.205	2.887	3.898
177	240	67.47	21.59	3.38	18.88	68.84	19.95	6.151	2.869	3.898
178	235.8	63.32	22.82	3.264	18.53	35.83	13.68	3.738	2.864	3.898
179	250.5	85.82	27.01	3.407	20.23	91.58	25.5	8.287	2.897	3.898
180	239.8	66.97	21.41	3.237	18.84	77.62	22.26	7.039	2.886	3.898
183	256.3	94.61	29.65	3.435	20.89	54.78	18.42	5.56	2.881	3.898
184	249	93.84	26.29	3.3	20.03	85.69	23.47	7.506	2.867	3.898

185	260.4	91.7	28.78	3.033	20.16	59.2	17.61	5.249	2.858	3.898
186	245.4	75.53	23.96	3.252	19.34	92.34	24.04	7.735	2.875	3.898
187	238.9	75.46	21.37	3.269	18.78	53.82	17.37	5.157	2.886	3.898
188	242.8	71.03	22.57	3.147	18.92	67.77	20.08	6.199	2.875	3.898
189	247.2	72.39	22.98	2.996	18.79	38.59	14.6	5.195	2.867	3.898
191	250	75.7	23.97	3.05	19	70.74	19.7	6.055	2.86	3.898
192	247.9	78.48	24.87	3.207	19.45	64.17	19.77	6.031	2.864	3.898
194	255	87.86	27.63	4.021	20.09	93.98	24.64	6.99	2.874	3.898
195	262.1	98.25	30.75	4.718	20.83	90.93	24.53	7.914	2.88	3.898
196	250.6	85.1	26.8	4.869	20.13	75.38	21.71	6.829	2.889	3.898
197	243.6	73.77	23.46	3.305	20.29	59.71	18.16	5.389	2.866	3.898
198	258.5	102.7	29.64	4.788	20.67	88.6	24.13	7.76	2.884	3.898
199	255.4	91.32	28.66	3.207	20.51	62.76	21.37	6.691	2.886	3.898
200	234.8	59.25	19.47	3.221	18.28	39.92	14.35	3.998	2.852	3.898
201	246	77.86	24.68	3.344	19.54	97.63	25.74	8.41	2.885	3.898
202	252	84.73	26.69	3.202	19.92	57.57	17.76	5.308	2.865	3.898
203	249.3	73.59	26.43	3.522	20.08	71.31	20.91	6.522	2.89	3.898
204	252.6	85.61	26.95	3.23	19.98	47.41	15.97	4.571	2.867	3.898
205	239.6	56.81	18.36	3.073	18.69	72.43	20.28	6.255	2.87	3.898
207	252.6	80.63	25.45	3.05	19.38	86.77	23.39	7.475	2.86	3.898
208	250.8	80.45	25.4	3.162	19.48	157.8	32.75	11.08	2.861	3.898
209	245.4	72.72	23.08	3.121	18.95	67.66	19.09	5.818	2.854	3.898
210	243.3	82.15	25.96	3.02	19.03	48.27	16.28	4.738	2.86	3.898
211	248.6	83.59	26.34	3.381	20.1	121	22.47	7.126	2.885	3.898
212	245.5	75.52	23.92	3.188	19.28	61.16	21.83	5.438	2.853	3.898
213	262.9	105.8	32.99	6.001	21.32	62.3	20.46	5.72	2.856	3.898
214	256.5	71.67	22.78	3.121	19.02	97.25	25.31	8.214	2.869	3.898
215	252.3	87.48	27.51	3.427	20.29	61.44	18.73	5.681	2.883	3.898

216	243.4	73.1	23.19	3.218	19.14	65.61	19.34	5.916	2.873	3.898
217	242.2	72.58	23.04	3.437	19.2	64.97	19.1	5.822	2.861	3.898
219	236.7	67.33	21.46	3.442	19.04	50.06	16.57	4.85	2.863	3.898
221	245.6	67.51	21.55	3.48	19.01	77.3	21.89	6.896	2.886	3.898
222	248.6	81.12	25.6	3.37	19.76	57.55	17.72	5.294	2.864	3.898
227	243.1	72.02	22.94	3.189	19.14	60.07	18.74	5.622	2.889	3.898
228	242.5	74.4	23.58	3.383	19.41	74.11	21.16	6.616	2.878	3.898
229	246.1	88.63	27.89	3.03	19.56	57.64	21.96	5.382	2.874	3.898
231	271.9	127	36.34	3.451	22.29	58.35	18.45	5.503	2.896	3.898
232	256.5	90.38	28.38	3.255	20.35	69.16	17.43	5.042	2.887	3.898
233	247.4	78.5	24.82	3.311	19.5	82.45	23.06	7.345	2.889	3.898
234	242.4	71.65	22.76	3.212	19.08	73.02	20.74	6.454	2.873	3.898
236	237.2	65.84	21.01	3.293	18.73	62.88	19.02	5.791	2.885	3.898
237	249.1	77.8	28.19	2.954	19.3	70.22	18.29	5.511	2.873	3.898
240	255.7	89.36	28.08	3.276	20.21	79.21	22.2	6.998	2.881	3.898
241	244.9	74.03	26.47	3.194	19.58	57.16	17.76	5.309	2.88	3.898
243	248.9	80.81	25.51	3.19	19.68	83.65	22.8	7.248	2.874	3.898
245	265.2	98.16	30.72	4.47	20.58	58.16	21.22	6.641	2.855	3.898
246	249.5	79.97	25.31	4.032	19.47	66.43	19.86	6.065	2.886	3.898
247	244.6	71.41	22.8	3.062	19.06	67.11	20.83	6.454	2.857	3.898
248	280.6	127.9	39.54	3.217	20.1	83.79	22.98	7.31	2.881	3.898
249	252.9	90.09	28.29	3.604	20.61	67.98	20.46	6.345	2.877	3.898
250	247	78.61	24.85	3.22	19.57	63.41	19.19	5.858	2.884	3.898